

**Immunologische Charakterisierung mononukleärer Zellen des
gingivalen Sulkus und des peripheren Blutes bei Parodonti-
tispatienten mit manifestierter Allergie**

**Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)**

**Vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich – Schiller – Universität Jena**

**von
Himapriya Sanath Pathirana
geboren am 11.08.1969 in Colombo Sri Lanka**

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1 Zusammenfassung	5
2 Einleitung	7
2.1 Ätiologie der entzündlichen Parodontalerkrankungen	7
2.1.1 Chronische Parodontitis	8
2.1.2 Aggressive Parodontitis	9
2.2 Immunologische Zusammenhänge zwischen Parodontitis und Allergie	10
3 Ziel der Arbeit	13
4 Material und Methoden	14
4.1 Auswahl der Probandengruppen	14
4.2 Klinische Befundaufnahme	14
4.3 Experimentelle Methoden	17
4.3.1 Probengewinnung	17
4.3.2 Analyse der Lymphozytensubpopulation in der Sulkusflüssigkeit und im peripheren Blut	19
4.3.2.1 Grundlagen der Durchflusszytometrie	19
4.3.2.2 Durchflusszytometrische Messung	21
4.3.3.3 Immunphänotypisierung	22
4.3.3.4 Bestimmung der Interleukinrezeptoren	22
4.3.3.5 Bestimmung der Eosinophilen Granulozytenfraktion	22
4.4 Statistische Verfahren	24

5	Ergebnisse	25
5.1	Ausgewählte immunologische Parameter in Abhängigkeit von den Untersuchungsgruppen	25
5.1.1	Lymphozytensubpopulationen	25
5.1.2	Interleukinrezeptoren IL2, IL4, IL5 und IL6	27
5.1.3	Eosinophile Granylozyten	29
5.2	Ausgewählte immunologische Parameter in Abhängigkeit von der Allergieform	30
5.2.1	CD4/CD8 Ratio	30
5.2.2	T-Helferzellen und T-Suppressorzellen	31
5.2.3	Interleukin 5-Rezeptor	31
5.2.4	Eosinophile Granylozyten	32
6	Diskussion	33
7	Schlussfolgerungen	41
8	Literaturverzeichnis	42
9	Anhang	54

Verzeichnis der Abkürzungen

A. actinomycetemcomitans / A.a.	Actinobacillus actinomycetemcomitans
AAP	American Academy of Periodontology
ADC	Analog/Digital Converter
Amp	Amplifier
AP	aggressive Parodontitis
BD	Becton Dickinson
CD	Cluster of differentiation
C. ochracea	Capnocytophaga ochracea
DGAI	Deutsche Gesellschaft für Allergologie und Klinische Immunologie
DKG	Deutsche Kontaktallergie Gruppe
EDTA	Äthylendiamintetraessigsäure
et al.	et alii (und andere)
FACS	Fluorescence activated cell sorter
FITC	Fluorescein isothiocyanate
FL	Fluoreszenz
F. nucleatum / F. n.	Fusobacterium nucleatum
FSC	Forward sideward channel
HIV	Human Immuno-Deficiency Virus
IgE	Immunglobulin E
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IFN	Interferon
IL	Interleukin
ISO	International Organization for Standardization
mRNA	Messenger ribonucleic acid
NaCl	Natriumchlorid
NK	Natürliche Killerzellen
P. gingivalis / P. g.	Porphyromonas gingivalis
P. intermedia	Prevotella intermedia
MZPB	Mononukleäre Zellen des peripheren Blutes
PBS	Phosphat buffered solution

PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PI	Plaqueindex nach Silness und L�e
PMNL	Polymorphkernige neutrophile Leukozyten
PerCPII	Peridinin-Chlorophyll A-Protein
PE	Phycoerythrin
R	Rezeptor
RPP	Rasch Progressive Parodontitis
RPMI 1640 Medium	Roswell Park Memorial Institute
rpm	Rotations per minute
SBI	Sulkusblutungsindex
SPSS	Statistical package for social science
SSC	Sideward sideward channel
ST	Sondierungstiefe
T. forsythensis/T.f.	Tanerella forsythensis
TH	T Helferzellen
TNF	Tumor Nekrose Faktor

1 Zusammenfassung

Die Parodontitis ist neben der Karies die häufigste Ursache für den Zahnverlust im Erwachsenenalter. Es ist bekannt, dass das Risiko, an einer aggressiven Parodontitis zu erkranken, bei bestimmten Subpopulationen der Bevölkerung erhöht ist. Bisher wurden als Risikofaktoren u.a. das Rauchen und der Diabetes mellitus ermittelt. Es stellt sich aber auch die Frage, ob möglicherweise allergische bzw. autoimmunogene Komponenten, speziell bei der Personengruppe der Allergiker bzw. Atopiker mit aggressiver Parodontitis, eine besondere pathogenetische Rolle spielen.

Das Ziel der Arbeit war es, Patienten mit aggressiver Parodontitis mit bzw. ohne Allergie und parodontal gesunde Probanden mit und ohne Allergie hinsichtlich spezifischer immunologischer Parameter zu untersuchen, um in diesem Kontext mögliche Auffälligkeiten zu ermitteln.

Der Zahnfleischsulkus ist als ein Ort mit einer erhöhten Wirtsabwehr im oralen Bereich bekannt. Es wurden zunächst Zytokinrezeptorprofile bzw. allergiespezifische Rezeptoren mononukleärer Sulkuszellen mittels Durchflusszytometrie untersucht. Außerdem erfolgte die Analyse der sulkulären Lymphozytensubpopulationen (T-Zellen, B-Zellen, T-Suppressorzellen, T-Helferzellen). Die Untersuchung der Zytokinrezeptoren mononukleärer Zellen (IL2-R, IL4-R, IL5-R, IL6-R) und das Auftreten eosinophiler Granulozyten erfolgte in den Kompartimenten Sulkus und peripheres Blut. Auffälligkeiten, die Lymphozytensubpopulationen betreffend, wurden beim Vergleich der Test- und Kontrollgruppen nicht beobachtet. Es zeigte sich allerdings, dass das Verhältnis der sulkulären T- und B-Zellen in allen Gruppen zu Gunsten der B-Zellen verschoben war.

Statistisch signifikante Unterschiede zwischen Parodontitispatienten mit Allergie und ohne Allergie konnten für die CD4/CD8 Ratio und für die CD8⁺ -Lymphozyten in der Sulkusflüssigkeit ermittelt werden. So konnte bei Parodontitispatienten mit Allergie eine reduzierte sulkuläre CD4/CD8 Ratio und eine vermehrte Anzahl (CD8⁺) T-Suppressorzellen beobachtet werden.

Außerdem wurde gezeigt, dass die Expression des Interleukin 4-Rezeptors mononukleärer Sulkuszellen gegenüber denen des peripheren Blutes signifikant erhöht ist. Die Ergebnisse für den IL6-Rezeptor wiesen dagegen genau umgekehrte Werte auf. Bezüglich der allergierelevanten Parameter wurde ein Unterschied zwischen einer signifikant erhöhten Zahl eosinophiler Granulozyten in der Sulkusflüssigkeit bei Parodontitispatienten mit Allergie gegenüber den Parodontitispatienten ohne Allergie

ermittelt. Außerdem konnten auch tendenziell höhere IL5-Rezeptorexpressionswerte bei den Parodontitispatienten mit Allergie beobachtet werden.

Die Analyse in Abhängigkeit von den Allergieformen ergab im Vergleich zu Parodontitispatienten ohne Allergie für beide untersuchten Allergieformen deutlich erhöhte Eosinophilenzahlen im Sulkus. Diese waren insbesondere bei der Gruppe der Parodontitispatienten mit einer Allergie auf dentale Werkstoffe auch gegenüber dem peripheren Blut deutlich erhöht.

Die vorliegenden Ergebnisse deuten auf immunologische Besonderheiten bei Patienten mit aggressiver Parodontitis und allergischen Erkrankungen hin, dafür spricht insbesondere das vermehrte Auftreten der eosinophilen Granulozyten im Sulkus.

Möglicherweise spielt bei dieser Subgruppe der Patienten die Allergie als pathogenetische Komponente eine Rolle. Ob diese Personengruppe allerdings eine eigene Subpopulation innerhalb der Patienten mit einer aggressiven Parodontitis darstellt, muss durch weiterführende bzw. auch spezielle epidemiologische Untersuchungen geklärt werden.

2 Einleitung

2.1 Ätiologie der entzündlichen Parodontalerkrankungen

Bei Erwachsenen ab dem 40. Lebensjahr steigt die Häufigkeit von Zahnextraktionen aus parodontalen Gründen deutlich an. Sie liegt dann bei über 40% und stellt in dieser Altersgruppe die häufigste Ursache für den Zahnverlust dar (Reich 1993; Glockmann und Köhler 1998).

Die Parodontitis ist definiert als Entzündung der marginalen Gingiva, die sich auf den Faserapparat, den Alveolarknochen und das Zement ausdehnt und zum klinisch sichtbaren Attachmentverlust sowie zum röntgenologisch nachweisbaren Knochenabbau führt. Unterschiede im Auftreten bzw. dem Schweregrad der Erkrankung werden von Ranney (1991) als Funktion der lokalen Infektion und des Grades der gestörten Wirtsabwehr angesehen.

Die Mikroorganismen, lokalisiert in der supra- bzw. subgingivalen Plaque, stellen in Wechselwirkung mit der Wirtsreaktion den wichtigsten pathogenetischen Faktor dar (Pfister und Eick, 2001). Die Mikroflora unterscheidet sich bei den verschiedenen klinischen Formen der Parodontitis (Zambon et al., 1996; Albandar et al., 1997). Während beispielsweise bei der generalisierten aggressiven Parodontitis vorwiegend *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* und *Tannerella forsythensis* als spezifische Pathogene anzutreffen sind, ist bei der lokalisierten aggressiven Parodontitis häufig die Spezies *Actinobacillus actinomycetemcomitans* nachweisbar (Sigusch 2003).

Durch die sich entwickelnden Erkenntnisse der bakteriellen Ätiologie und die entsprechende mikrobiologische Diagnostik existieren inzwischen die Voraussetzungen, um pathogenetische Zusammenhänge der entzündlichen Parodontalerkrankungen besser zu verstehen und neue Konzepte für eine effektive Therapie entwickeln zu können (Amitage, 1999).

Die klassischen Methoden der Parodontitisdiagnose sind auf klinische Untersuchungen und die radiographische Analyse konzentriert und werden inzwischen durch die mikrobiologische und immunologische Diagnostik erweitert.

Die Wirtsabwehr ist individuell determiniert. Sie hängt unter anderem von der Art, Qualität und Quantität der Bakterien, der Dauer der Erkrankung, verschiedener lokaler sowie verschiedene Umweltfaktoren, dem Auftreten systemischer Erkrankungen, bestimmten genetischen Faktoren und auch von der Antwortreaktion des Wirts auf die Entzündung ab.

Beispielweise sehen Van Dyke et al. (2000) das zukünftige Ziel der parodontologischen Forschung darin, die multifaktorielle Natur der Parodontitis besser zu verstehen, um neue Diagnosemethoden zur Früherkennung dieser Erkrankung zu entwickeln. So soll speziell auch eine frühe Behandlung der Erkrankung ermöglicht werden, um die Destruktionen des Parodonts verhindern zu können. Auch in diesem Kontext ist es wichtig, dass auch bisher möglicherweise unbekannte ätiologische Komponenten ermittelt werden.

Es existiert eine aktuelle Klassifikation der Gingivopathien und Parodontitiden auf der Basis des „International Workshop for Classification of Periodontal Diseases and Conditions“ (Armitage, 1999). Die bisherige Klassifikation nach Lebensalter und Progressionsrate wurde wegen Inkonsistenz verworfen. Die Parodontitis wird jetzt als chronische bzw. aggressive Form definiert. Außerdem findet sich in der neuen Klassifikation noch die Möglichkeit zur Einteilung bezüglich des Ausmaßes und der Schwere der Erkrankung bzw. auch die Unterscheidung einer lokalisierten und generalisierten Form.

2.1.1 Chronische Parodontitis

Die am weitesten verbreitete Parodontitisform ist die früher als adulte Parodontitis bezeichnete Erkrankung, die nach der neuen AAP Nomenklatur als chronische Parodontitis bezeichnet wird (Armitage 1999). Der Altersgipfel der Erkrankung liegt bei über 35 Jahren, wobei keine geschlechtsspezifische Prädisposition festgestellt werden kann (Altmann et al. 1985, Suzuki 1988, Genco 1990, Ranney 1992). Die chronische Parodontitis ist gekennzeichnet durch einen messbaren Attachmentverlust mit Sondierungstiefen $\geq 4\text{mm}$, der mit unterschiedlichen Entzündungsgraden der Gingiva vergesellschaftet ist (Schroeder, 1991). Sie ist in den meisten Fällen durch das Vorhandensein von subgingivalem Zahnstein charakterisiert. Das Röntgenbild zeigt in der Regel einen horizontalen Knochenabbau (Karpinia et al. 2000, Fowler et al. 2001). Von einer lokalisierten chronischen Parodontitis spricht man, wenn weniger als 30 % der Flächen betroffen sind. Um eine generalisierte chronische Parodontitis handelt es sich dann, wenn mehr als 30 % der Stellen befallen sind.

Eine Dominanz bestimmter parodontopathogener Bakterienspezies kann nicht festgestellt werden. Haffajee et al. (1998) weisen auf die ätiologische Bedeutung der Spezies *Tannerella forsythensis* (*Bacteroides forsythus*), *Porphyromonas gingivalis*,

Treponema denticola und *Selenomonas noxia* für chronische Parodontitis hin. Chaves et al. (2000) konnten zeigen, dass bei chronischen Parodontitispatienten der Nachweis von *Porphyromonas gingivalis* mit alveolärem Knochenabbau assoziiert ist. Je ausgeprägter die parodontale Destruktion ist, desto häufiger dominieren anaerobe Bakterien die parodontale Läsion, vor allem *P. gingivalis*, *P. intermedia* und *Tanerella forsythensis* (Genco 1996).

Cutler et al. (1999) weisen beispielweise auch auf eine mögliche Assoziation zwischen der chronischen Parodontitis und einer Kontaktsensibilisierung hin. Liebana et al. (1994) beschreiben nach einer überschießenden Immunantwort bzw. einer anaphylaktischen Reaktion oder Typ IV Hypersensibilisierung eine parodontale Gewebeerstörung und Knochendestruktion im Sinne einer chronischen Parodontitis.

2.1.2 Aggressive Parodontitis

Die aggressive Parodontitis ist als infektiöse, entzündliche Erkrankung des Zahnhalteapparates definiert, die mit schnellem Attachmentverlust bzw. raschem Abbau des Alveolarknochens einhergeht. Es wird unterschieden zwischen einer lokalisierten aggressiven und einer generalisierten aggressiven Parodontitis.

Die lokalisierte aggressive Parodontitis beginnt manchmal schon während der Pubertät, d.h. im Alter von 12-15 Jahren. Charakteristisch ist dann häufig der symmetrische Befall der ersten Molaren bzw. der mittleren Inzisivi, der mit proximalem Attachmentverlust an mindestens zwei bleibenden Zähnen verbunden ist. Bei der generalisierten Form ist die Mehrzahl der Zähne betroffen, wobei ein bestimmtes Verteilungsmuster nicht zu erkennen ist.

Charakteristisch für die aggressive Parodontitis ist die Schwere der parodontalen Destruktion, die mit vertikalen - speziell auch intraalveolären - Knochendefekten einhergeht. Die klassischen Entzündungszeichen der Gingiva können manchmal auch fast vollständig fehlen.

Nicht selten werden erhöhte Serumantikörper auf bestimmte parodontopathogene Bakterien wie z.B. *A. actinomycetemcomitans* und *P. gingivalis* nachgewiesen (Listgarten et al. 1981, Page et al. 1983, Martin et al. 1986, Zafiroopoulos et al. 1991, Flemming 1993).

Die unter einer generalisierten aggressiven Parodontitis leidenden Patienten erkranken nicht selten schon häufig zwischen der Pubertät und dem 35. Lebensjahr und werden dann besonders zwischen dem 20. und 30. Lebensjahr klinisch auffällig

(Page et al. 1983). Die Prävalenz liegt bei etwa 10-15% (FDI, 1994) mit familiär gehäuftem Auftreten und rassenspezifischen Variationen. Weil bekannt ist, dass es Patienten gibt, bei denen der aggressiven Parodontitis im Erwachsenenalter bereits eine Parodontitis in der Adoleszenz vorausgegangen war, hat man jetzt in der neuen Nomenklatur auf den Altersbezug verzichtet (Page et al. 1983, Müller & Flores-de-Jacoby 1985).

Der zumeist frühzeitig einsetzende Krankheitsverlauf ist während der Phase der Exazerbation von einem stark progressiven Tempo bestimmt, der oft nicht in Relation zur Plaquemenge steht. Dabei ist die Gingiva akut entzündet, blutet spontan und weist nicht selten auch marginale Proliferationen auf. Hierbei sind manchmal schon innerhalb von Wochen und Monaten erhebliche Knochen- und Attachmentverluste nachweisbar (Page et al. 1983). Das Aufflammen der Erkrankung kann mit einem reduzierten Allgemeinzustand, sowie Gewichtsverlust, Müdigkeit, Abgeschlagenheit, Depressionen und Appetitlosigkeit verbunden sein.

Auch die Phagozytosefunktion der PMNL ist häufig deutlich herabgesetzt (Kimura et al., 1992, Sigusch et al., 1992). Bei einem Großteil der erkrankten Patienten konnten außerdem Chemotaxisdefekte der Monozyten und der neutrophilen Granulozyten nachgewiesen werden. Lavine et al. (1979) und Altman et al. (1985) beobachteten diese bei 50% bis 80% der Patienten. Sigusch et al. (2001) wiesen der reduzierte Chemotaxis der PMNL auch für den sulkulären Bereich bei Patienten mit aggressiver Parodontitis nach.

Bei der Untersuchung der subgingivalen Mikroflora wurden in ausgeprägten Läsionen insbesondere *P. gingivalis*, *T. forsythensis*, *F. nucleatum*, *A. actinomycetemcomitans* und *Campylobacter species* gefunden. Aber auch schon mittlere Sondierungstiefen sind mit *Tanerella forsythensis*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum* und *C. ochracea* assoziiert (Kamma et al. 1995).

2.2 Immunologische Zusammenhänge zwischen Parodontitis und Allergie

Das bisher favorisierte klassische Pathogenesemuster der entzündungsbedingten Immunantwort im parodontalen Weichgewebe geht für die Gingivitisläsion von einer T-Zell-Dominanz aus. Bei der Parodontitisläsion wird hingegen eine B-Zell-Dominanz beschrieben (Seymour 1991). Ferner wird angenommen, dass speziell in der Parodontitisläsion die T-Zellen und hier insbesondere die TH2-Zellen mit ihrer Zyto-

kinproduktion eine besondere Rolle übernehmen, die u. a. darin besteht, die B-Zellen zu stimulieren, bzw. diese in Immunglobulin-produzierende Zellen zu transformieren. Beck (1994) geht davon aus, dass bestimmte Personen bzw. Subgruppen einer Population ein höheres Risiko für die Parodontitis aufweisen als andere. Ätiologisch sind dabei neben den mikrobiologischen Faktoren vor allem bestimmte immunologische Komponenten von besonderer Relevanz. Sigusch et al. (1998) untersuchten die Immunpathogenese der aggressiven Parodontitis, und dabei speziell die Funktion der mononukleären Zellen des peripheren Blutes und deren Zytokinprofile. Als ein Ergebnis ihrer Untersuchungen ermittelten die Autoren einen erhöhten IL5 Spiegel und insgesamt eine erhöhte TH2-Zytokinexpression bei Patienten mit aggressiver Parodontitis.

Man kann davon ausgehen, dass ein Ungleichgewicht zwischen TH1- und TH2-Zytokinen mit dem Fortschreiten einer Infektionskrankheit assoziiert ist (Nouri u. Panayi 1987; McFarlane et al. 1990; Kaneko et al. 1991).

Ergebnisse einer Studie von Gemmell et al. (1996) ergaben in diesem Zusammenhang, dass mit *Porphyromonas gingivalis* infizierte Patienten nicht zwangsläufig eine schwere parodontale Destruktion entwickeln, wenn diese ein typisches TH1-oder TH0-Zytokinprofil exprimieren. Sollte dieses aber beeinträchtigt sein, oder wird dieses von einem TH2-Profil dominiert, dann besteht möglicherweise die Disposition für eine schwere Parodontitis. In diesem Zusammenhang wird die Rolle der zellvermittelten Immunität in der Pathogenese der Parodontitis besonders deutlich. Denn es gilt als sicher, dass die TH1-Zytokine IL2, IFN-gamma und TNF-alpha als wichtige Mediatoren der zellvermittelten Immunität eine entscheidende Rolle spielen. Andererseits haben die TH2-Zytokine IL4, IL5, IL10 und IL13 eine besondere Bedeutung für die humorale Immunantwort, da sie u. a. die Produktion von IgG und IgE bewirken bzw. speziell das IL5 ein wichtiger Eosinophilenwachstumsfaktor ist. Nakajima et al. (1997) stellten fest, dass insbesondere die speziell TH2-Zytokine u.a. die Produktion von IgG-Autoantikörperproduktion fördern können. Eine Schlüsselrolle übernimmt in diesem Kontext das IL4.

Die vermehrte Expression von TH2-Zytokinen könnte insgesamt auch für eine erhöhte entzündliche Reaktionsbereitschaft sprechen. So werden in jüngster Zeit auch auf allergische bzw. autoimmunogene Mechanismen beruhende Pathogenese-konzepte für die Parodontitis diskutiert (Champaiboon et al. 2000). Dabei spielen das IL4 und das IL5 eine besondere Rolle. Hierzu beobachteten u.a. auch Vowels et al.

(1995) eine deutlich erhöhte IL4-mRNA Expression in Hautläsionen, die eine Typ IV-Hypersensibilisierung zeigt.

Bekannt ist auch, dass das IL4 eine entscheidende Rolle bei der Migration bzw. Aktivierung der Eosinophilen in der lokalen Läsion spielt und an der Auslösung einer zellvermittelten Sensibilisierungsreaktion des verzögerten Typs unmittelbar beteiligt ist.

Die pathogenetische Bedeutung von IL4 und IL5, insbesondere bei der allergischen Kontaktsensibilisierung, wurde auch von Rowe et al. (1998) diskutiert. Szczepanik et al. (1999) bezeichnen die Kontaktsensibilisierung als klassisches Beispiel einer durch TH2-Zellen vermittelten Immunantwort, die speziell durch das IL-4 reguliert wird. In welchem Ausmaß allerdings allergische bzw. autoimmunogene Phänomene in der Pathogenese der Parodontitis beteiligt sind, ist bisher weitestgehend ungeklärt.

Das bisher favorisierte klassische Pathogenesemuster der entzündungsbedingten Immunantwort im parodontalen Weichgewebe geht für die Gingivitisläsion von einer T-Zell-Dominanz aus. Bei der Parodontitisläsion wird hingegen eine B-Zell-Dominanz beschrieben (Seymour 1991). Ferner wird angenommen, dass speziell in der Parodontitisläsion die T-Zellen und hier insbesondere die TH2-Zellen mit ihrer Zytokinproduktion eine besondere Rolle übernehmen, die u. a. darin besteht, die B-Zellen zu stimulieren, bzw. diese in Immunglobulin-produzierende Zellen zu transformieren.

3 Ziele der Arbeit

Die Ergebnisse zahlreicher Studien auf parodontologischen Gebiet führen zunehmend zu dem Schluss, dass die Parodontitis eine multifaktorielle Erkrankung mit relativ hoher Prävalenz ist.

Die Anzahl der Allergien ist in den letzten Jahrzehnten dramatisch gestiegen. Allergische Erkrankungen haben besonders in den Ländern der westlichen Welt erheblich zugenommen, von ca. 2 % in den 50-iger auf 10 bis 20 % Ende der 80-iger Jahre. Besonders deutlich wird die zunehmende Häufigkeit bei den sogenannten atopischen Erkrankungen (atopisches Ekzem, Asthma, Heuschnupfen). In Deutschland leiden 10 bis 20 Prozent der Menschen an Allergien, davon inzwischen auch sehr viele Kinder und Jugendliche (DGAI 1999).

Um festzustellen, ob bei Patienten, die sowohl unter einer Allergie auf dentale Werkstoffe bzw. Atopie und zusätzlich auch unter einer aggressiven Parodontitis leiden, die lokale Wirtsabwehr im Sulkus bzw. peripheren Blut durch spezielle, immunologische Komponenten charakterisiert ist, sollten folgende Fragen beantwortet werden:

- Sind Parodontitispatienten mit und ohne Allergie durch bestimmte Lymphozytensubpopulationen in der Sulkusflüssigkeit bzw. im peripheren Blut gekennzeichnet?
- Treten bei Parodontitispatienten mit Allergie typische Zytokinrezeptorenprofile (IL2, IL4, IL5, IL6-Rezeptor), an mononukleäre Zellen der Sulkuflüssigkeit bzw. des peripheren Blutes auf?
- Finden sich Unterschiede im Auftreten eosinophiler Granulozyten in der Sulkusflüssigkeit bzw. im peripheren Blut bei Parodontitispatienten mit und ohne Allergie?

4 Material und Methode

4.1 Auswahl der Probandengruppen

Für die vorliegende Studie wurden 73 Probanden konsekutiv aus dem Patientengut der Poliklinik für Konservierende Zahnheilkunde des Zentrums für Zahn- Mund und Kieferheilkunde des Klinikums der Friedrich-Schiller-Universität Jena rekrutiert. Die Einteilung in Gruppen wurde folgendermaßen vorgenommen: aggressiver Parodontitis und Allergie (Allergie auf dentale Werkstoffe bzw. Atopie), aggressiver Parodontitis ohne Allergie, Kontrolle (parodontal gesund) mit Allergie und Kontrolle (parodontal gesund) ohne Allergie (s. Tab.1). Die Probanden der Test- bzw. Kontrollgruppen entsprachen sich bzgl. Alter und Geschlecht. Durch die Ethikkommission des Klinikums der Friedrich-Schiller-Universität Jena wurde ein positives Votum für die Durchführung der vorliegenden Studie abgegeben.

Nach eingehender klinischer und röntgenologischer Untersuchung der parodontalen Verhältnisse bzw. des Allergienachweises erfolgte die Zuordnung der Probanden zu den jeweiligen Untersuchungsgruppen. Diese stellten sich wie folgt dar:

Tab. 1: Gruppeneinteilung

Anzahl	Parodontitis mit Allergie		Parodontitis ohne Allergie	Kontrolle mit Allergie	Kontrolle ohne Allergie
n	32		14	13	14
	Kontaktallergie auf dentale Werkstoffe	Atopie			
n	18	14			

4.2 Klinische Befundaufnahme

Zu Beginn der Untersuchung konnten durch eine umfassende Anamnese andere systemische Erkrankungen als die Allergie bzw. eine im letzten halben Jahr durchgeführte adjuvante Antibiotikatherapie ausgeschlossen werden. Alle in die Studie einbezogenen Probanden waren Nichtraucher. Vor der Entnahme des Probenmaterials aus dem Sulkus bzw. den Zahnfleischtaschen erfolgten eine gründliche Entfernung von supra- und subgingivalen Belägen sowie Mundhygieneunterweisungen und eine

eingehende Patientenmotivation durch eine Fachschwester für Zahn- und Mundhygiene.

Es wurden folgende klinische Indizes zur Einschätzung des Entzündungsgrades des Parodonts erhoben:

Mundhygienebefund

Während der parodontalen Befunderhebung vor der Probenentnahme wurde der Plaque- und Sulkusblutungsindex ermittelt.

a) Plaque- Index (PI) nach Silness und Loe (Silness and Loe, 1964)

Dieser Index ist ein Maß für die Plaquemenge im Bereich der Gingiva und der angrenzenden Zahnflächen. Nach relativer Trockenlegung werden die ausgewählten Zähne in ihren mesialen, distalen, vestibulären und oralen Bereichen an 6 Messpunkten bewertet. Es wird folgende Graduierung vorgenommen:

Grad 0: keine Plaque

Grad 1: nicht sichtbarer Plaquefilm, hauchdünner Belag am Gingivarand und den benachbarten Flächen durch Abstreichen mit der Sonde zu erkennen

Grad 2: mäßige Plaqueablagerungen im Bereich des Gingivarandes, mit bloßem Auge zu erkennen

Grad 3: dicke Plaqueablagerung im Bereich des Gingivarandes sowie Ausdehnung weit auf die Glattflächen der Zahnkrone, Interdentalraum ausgefüllt

b) Sulkus- Blutungsindex (SBI) nach Mühlemann und Son (1971)

Dieser Index wurde zur Beurteilung der Gingivitis entwickelt. Es erfolgt die Einschätzung der Blutungsbereitschaft im Bereich des Parodonts bzw. die Charakterisierung des Entzündungszustandes. Die Beurteilung des Entzündungsgrades wird ca. 30 Sekunden nach schonendem Ausstreichen des Sulkus mit einer WHO-Parodontalsonde durchgeführt und folgendermaßen bewertet:

Grad 0 - normal aussehende Gingiva, keine Blutung bei Sondierung

Grad 1 - keine Veränderung der Gingivafarbe und Textur, Blutung bei Sondierung

- Grad 2 - entzündliche Farbveränderung, keine Veränderung der Textur,
Blutung bei Sondierung
- Grad 3 - Farbveränderung, leichtes Ödem, Blutung bei Sondierung
- Grad 4 - Farbveränderung, schweres Ödem, Blutung bei Sondierung
- Grad 5 - Farbveränderung, schweres Ödem mit oder ohne Ulzeration,
Spontanblutung

Parodontalbefund

Die Messung der Sondierungstiefen erfolgte mit einer millimetergraduierten Parodontalmesssonde (PCP11, Hu-Friedy) an 6 Messpunkten pro Zahn. Als Referenzpunkte dienten der Taschenboden und der marginale Gingivarand.

- Sondierungstiefe: Distanz vom fühlbaren Taschenboden zum marginalen Gingivarand

Die Diagnose aggressive Parodontitis wurde anhand der klinischen, radiographischen und anamnestischen Kriterien gesichert. Typischerweise war an mindestens einem Zahn ein vertikaler Knochenabbau von über 2/3 der Wurzellänge bzw. bis in die Nähe des Apex festzustellen. So wies der überwiegende Teil der Stellen (>50 %) ein Sondierungstiefenniveau von über 5 mm bis zu 12 mm auf, d.h. die rekrutierten Patienten gehörten zur generalisierten aggressiven Parodontitis.

Allergiediagnostik

Da die allergische Reaktion bei einem kontaktallergisierten Individuum hochspezifisch ist, wurde durch die artifizielle Auslösung eines allergischen Kontaktekzems als diagnostisches Verfahren die Identifizierung des auslösenden Kontaktallergens möglich. Eine isolierte Schleimhautsensibilisierung ist prinzipiell selten, da insbesondere die Mundschleimhaut auf Grund ihrer speziellen morphologischen- und immunologischen- Situation in der Regel eine erhöhte Toleranz gegenüber möglichen Allergenen aufweist (Richter et al. 1996). Für den Nachweis einer Kontaktallergie auch im oralen Bereich wird deshalb in der Regel der Epikutantest verwendet (Holm et al. 1993, Shah et al. 1996).

Beim Epikutantest werden die als Kontaktallergene verdächtigen Substanzen mittels Testpflaster auf die normale, reizlose Haut aufgebracht (Bandmann et al. 1982). Nach 48 Stunden werden die Pflaster entfernt und die Testreaktion das erste Mal

diagnostiziert (D2- Ablesung). Nach weiteren 24 Stunden erfolgt dann ein zweites Ablesen (D3- Ablesung). Die Bewertung und die Protokollierung der Testreaktion wurde semiquantitativ durchgeführt. Folgende Wertungsskala wurde verwendet und entspricht derjenigen der Deutschen Kontaktallergie- Gruppe (DKG).

- 0 Keine Reaktion
- ? fragliche Reaktion:
 schwaches fleckförmiges Erythem
- + positive Reaktion:
 Erythem, Infiltration mit dicht stehenden Bläschen
- ++ positive Reaktion:
 starkes Erythem, deutliche Infiltration mit dicht stehenden Bläschen
- +++ sehr starke positive Reaktion:
 starkes Erythem, Infiltration, dichtstehende, konfluierende Bläschen; evtl.
 größere Blasen, über den Testbezirk hinausgehend; evtl. kleine papulöse
 Satelliten in der Umgebung
- IR irritative Reaktion unterschiedlicher Qualität
- NT nicht getestet

In der vorliegenden Studie wurde bei den Probanden, bei denen kein Allergiepass vorlag ein Epikutantest auf dentale Werkstoffe durchgeführt.

4.3 Experimentelle Methoden

4.3.1 Probengewinnung

Sulkuszellentnahme

Durch die Vorbehandlung (Fachschwester) konnte primär eine relative Plaquefreiheit und ein niedriger Entzündungsgrad der Gingiva garantiert werden, was eine wichtige Voraussetzung für die Gewinnung der Sulkuszellen darstellte.

Zur Gewinnung von Zellen aus dem Gingivasulkus wurde die Methodik der Sulkusspülung eingesetzt (Skapski and Lehner, 1976; Wilton et al., 1976; Kowolik and Raeburn, 1980; Charon et al., 1982; Newmann and Addison, 1982; Renggli, 1983; Weiher und Storch, 1985; Meyle, 1986). Es kam die von Sigusch et al. (1992) modifizierte Methode zum Einsatz.

Für die Probenentnahme bei den Parodontitispatienten wurde die jeweils tiefste Stelle pro Quadrant ($ST \geq 6 \text{ mm}$) ausgewählt und gespült, nachdem zuvor der entsprechende Quadrant mittels Watterollen und Luftbläser relativ trocken gelegt worden war. Die Sulkusspülung erfolgte mit einer Eppendorfpipette ($10 \mu\text{l}$) ca. 10 – 15 mal pro Stelle unter Verwendung steriler 0,9%iger NaCl – Lösung (Thurre et al., 1984, Sigusch et al.; 1992). Bei den parodontal gesunden Probanden erfolgte die Entnahme der Sulkuszellen quadrantenweise an jeweils einer Stelle ($ST \leq 3,0 \text{ mm}$). Blutkontaminierte Proben wurden in jedem Fall verworfen. Durch die Wahl des Entnahmezeitpunktes nach der Vorbehandlung war die Aspiration von Blutanteilen sehr gering.

Pro Patient wurde eine gepoolte Probe von ca. $200 \mu\text{l}$ Zellsuspension gewonnen und in einem Eppendorfröhrchen gesammelt. Das gewonnene Material, d.h. die Zellsuspension, wurde zur weiteren Aufarbeitung zweimal mit PBS pH 7,2 (GIBCO™, Invitrogen Corporation, UK) bei 1200 rpm 10 min zentrifugiert und das entstandene Zellpellet in $200 \mu\text{l}$ PBS mit 10% RPMI resuspendiert.

Blutentnahme

Das Blut setzt sich aus einem festen Anteil, den Blutzellen, und einem flüssigen Anteil, dem Blutplasma, zusammen. Es ist möglich, aus labortechnischer Sicht drei unterschiedliche Fraktionen des Blutes zu untersuchen:

1. Vollblut

Darunter versteht man entnommenes Blut mit allen darin enthaltenen Bestandteilen. Zur Untersuchung der Blutzellen im Vollblut muss durch einen Zusatz im Entnahmeröhrchen die Gerinnung unterbunden werden.

2. (Blut-)Plasma

Dabei handelt es sich um Vollblut nach Entfernung der Blutzellen. Es besteht zu 90% aus Wasser und enthält quasi alle wichtigen Substanzen, die im Blut transportiert werden.

3. (Blut-)Serum

Das ist das Vollblut ohne Blutzellen und Gerinnungsfaktoren. Da Serum nicht mehr gerinnen kann, ist es für viele Untersuchungen, wie die Bestimmung des Blutzuckers, der Antikörper etc. am besten geeignet. Zur Herstellung des Blutserums lässt man das Blut gerinnen und zentrifugiert es anschließend. Das Serum hat sich dann als wässrige Flüssigkeit über den festen Blutbestandteilen abgesetzt.

Blutentnahme aus Venen

Werden größere Mengen Blut benötigt, so wird zumeist in der Armbeuge des Patienten mit Hilfe einer Kanüle das Venenblut in eine EDTA- Monovette aspiriert. Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde mit dieser Methode 10 ml Blut bei jedem Probanden morgens im nüchternen Zustand entnommen.

4.3.2 Analyse der Lymphozytensubpopulationen in der Sulkusflüssigkeit und im peripheren Blut

4.3.2.1 Grundlagen der Durchflusszytometrie

Mittels Durchflusszytometrie werden Zellen einer Suspension, die einen fluorochrommarkierten Antikörper gebunden haben, über eine Fotozelle registriert. Mit dieser Methode können größere Zellzahlen untersucht und ausgewertet werden. Es wurde das Gerät der Firma BD FACSCalibur verwendet.

Die markierten Zellen passieren in einem Flüssigkeitsstrom nacheinander einen Laserstrahl. Dabei werden die geeigneten Fluorochrome zur Emission von Fluoreszenzlicht angeregt. Zusätzlich streuen die Zellen das auftreffende Licht. Das in einem geringen Winkel ($3-10^\circ$) gestreute Licht wird als Vorwärtsstreulicht (FSC) bezeichnet und korreliert in erster Näherung mit der Zellgröße. Das um 90° reflektierte Licht wird als Seitwärtsstreulicht (SSC) bezeichnet und korreliert mit der Granularität und der Membranfaltung der Zelle. Neben diesen beiden Parametern stehen für die Messungen des emittierten Fluoreszenzlichtes drei Systeme aus Bandpassfiltern und Photosensoren zur Verfügung. Diese verarbeiten Strahlung in den Wellenlängenbereichen von 530 nm (Fluoreszenzkanal FL1), 585 nm (Fluoreszenzkanal FL2) bzw. >650 nm (Fluoreszenzkanal FL3). Bei Geräten mit einem zweiten Anregungslaser kann ein zusätzlicher Fluoreszenzparameter der Wellenlänge 670 nm (Fluoreszenzkanal FL4) genutzt werden. Hiermit ist bei einer großen Zellzahl eine schnelle, quantitative, sechs Parameter umfassende Analyse möglich.

FACSCalibur

Über einen zusätzlich eingebauten Diodenlaser lassen sich Farbstoffe verwenden, deren Anregung nicht bei den üblichen 488 nm (blau), sondern bei 635 nm (rot) liegt. Die Detektion der so angeregten roten bis ultraroten Fluoreszenzen erfolgt räumlich und zeitlich getrennt von den mit dem ersten Laser angeregten Farbstoffen. Probleme mit überlappenden Emissionsspektren, bei der Verwendung mehrerer Farbstoffe, lassen sich durch den Einsatz alternativer Farbstoffe umgehen. Im Vorwärtstreulicht wird in einem Winkel von ca. 3° zur Strahlungsrichtung des Lasers, die durch die Zelle gestreute Strahlung in der Wellenlänge des Lasers aufgenommen. Dies gilt als Maß für die Größe der Einzelzelle. Im Winkel von 90° werden Seitwärtstreulicht (als Maß für die Granularität der Einzelzelle) und die drei Fluoreszenzen gemessen. Die Filter im 90° -Strahlengang dienen der Erzeugung einer Kaskade, die mit steigender Wellenlänge jeweils bestimmte Bereiche des Spektrums herausfiltert (bei FL3 als Tiefpassfilter, bei FL2 und FL1 als Bandpassfilter). Nach dem eigentlichen Detektor folgt noch eine lineare bzw. logarithmische Verstärkung, die die analogen Signale amplifiziert (in Abb.1 als Verstärker -Amp dargestellt). Im Detektor werden die Signale empfangen und über einen eingebauten Analog/Digital-Wandler (ADC) in digitale Signale überführt, die im Listmode File gespeichert werden.

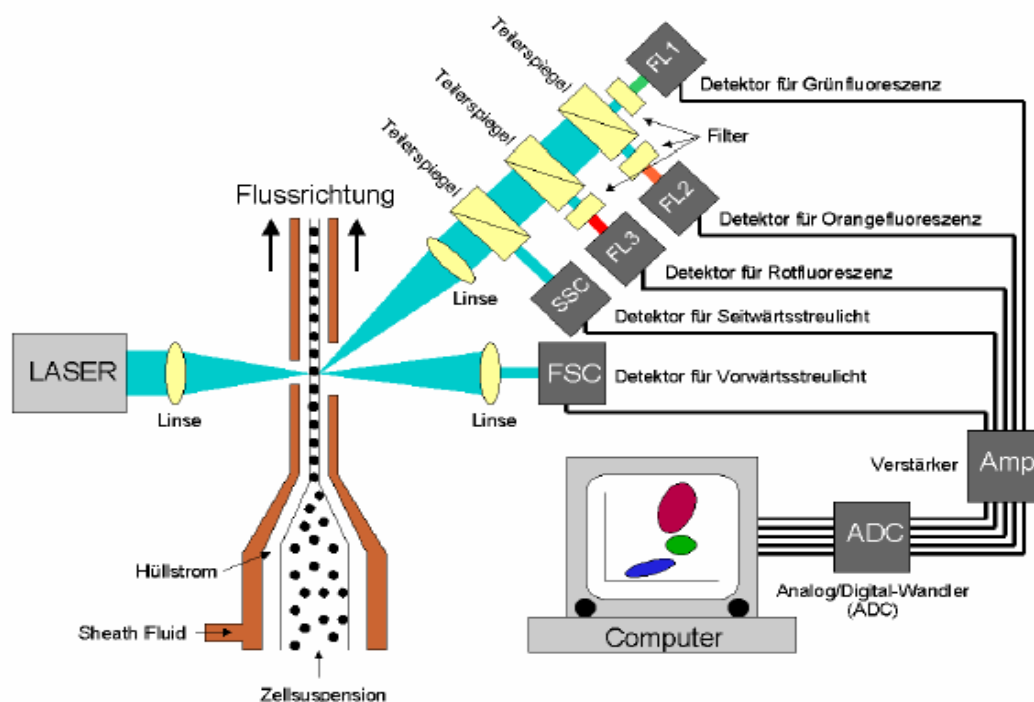


Abb. 1: Schematischer Aufbau eines Durchflusszytometers

4.3.2.2 Durchflusszytometrische Messung

Jeweils 50 µl der gewonnenen Sulkusflüssigkeit bzw. 100 µl heparinisiertes Blut wurden mit 10 µl der spezifischen fluorochrommarkierten Antikörper für 15 min im Dunkeln inkubiert. Danach erfolgte für 10 min die Lyse der Erythrozyten mit Facs Lysingsolution (BD Heidelberg, Deutschland). Die Proben wurden anschließend 2 x bei 1400 rpm 5 min mit Cellwash (BD, Heidelberg, Deutschland) gewaschen und das entstandene Zellpellet in 500 µl Cellwash (BD, Heidelberg, Deutschland) resuspendiert. Die Analyse erfolgte innerhalb kürzester Zeit mittels eines Vier-Farb-Durchflusszytometers FACSCalibur (BD, Heidelberg, Deutschland). Die Zellen wurden nach ihren Eigenschaften im FSC und SSC, sowie nach ihren fluoreszierenden Eigenschaften unterschieden. Dabei wurde zunächst in einer unbehandelten Kontrolle die Eigenfluoreszenz geprüft und mit der Isotypenkontrolle falsch positive Bindungen ausgeschlossen. Zur Datenaufnahme wurden im FSC und im SSC Bereiche (Gates) eingegrenzt, um die zu charakterisierende Zellpopulation darstellen zu können. In diesen Gates konnte im Fluoreszenzlicht die entsprechende Subpopulation analysiert werden. Zur multiparametrischen Untersuchung der Daten bietet sich die Darstellung in zweidimensionalen Dot-Plot-Matrizen an. Die Daten werden in einem Koordinatensystem aus Abszisse und Ordinate gezeigt. Jede Achse ist mit einem Parameter besetzt (z. B. FSC und SSC), ein Punkt entspricht einem Ereignis. Bei dieser Form der Darstellung bilden sich charakteristische „Wolken“ aus Populationen gleichartiger Zellen. Durch Setzen einer „Region“, in der die Populationen eingegrenzt werden, erzeugt man logische Bedingungen („Gates“), die als Ein- bzw. Ausschlusskriterien für weitere Dot-Plots gelten können (s. Abb. 2).

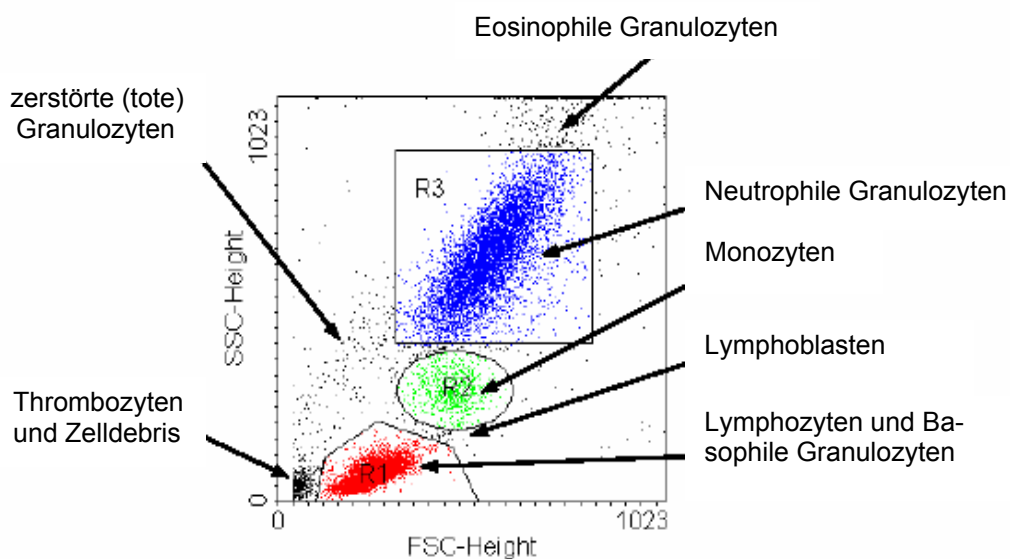


Abb. 2: Beispiel für eine Dot-Plot-Matrix mit Regionen (R1-R3)

4.3.3.3 Immunphänotypisierung

Humane Lymphozyten können aufgrund ihrer biologischen Funktion und ihrer exprimierten Zelloberflächenantigene in drei Hauptpopulationen unterteilt werden:

T-Lymphozyten, B-Lymphozyten und natürliche Killerzellen (NK-Lymphozyten).

T-Lymphozyten werden auch entsprechend ihrer funktionellen Eigenschaften als Helfer-/Inducerzellen und Suppressor-/zytotoxische Zellen unterschieden. Zur Differenzierung der Lymphozytensubpopulationen wurden folgende Reagenzien der Firma Becton Dickinson, Heidelberg verwendet.

- Simultest™ CD3-FITC /CD4-PE – T-Lymphozyten / T-Helfer Zellen
- Simultest™ CD3-FITC/CD8-PE – T-Lymphozyten / T-Suppressor Zellen
- Simultest™ CD3-FITC/CD19-PE – T-Lymphozyten / B-Lymphozyten

Als Isotypenkontrollen kamen die monoklonalen Antikörper Mouse IgG_{2a}, FITC markiert und Mouse IgG_{1,k}, PE markiert der Firma BD zur Anwendung.

4.3.3.4 Bestimmung der Interleukinrezeptoren

TH-Lymphozyten sind in der Lage, entsprechend ihres Aktivierungszustandes verschiedene Interleukinrezeptoren auf der Zelloberfläche zu exprimieren. Um mögliche Allergierelevante Interleukinrezeptoren zu determinieren, kamen folgende Oberflächenmarker (BD Heidelberg, Deutschland) (Cluster of Differentiation) verwendet:

- CD 122, PE markiert – IL2-Rezeptor
- CD 124, PE markiert – IL4-Rezeptor
- CD 125, PE markiert – IL5-Rezeptor
- CD 130, PE markiert – IL6-Rezeptor

4.3.3.5 Bestimmung der eosinophilen Granulozytenfraktion

Zur Analyse der eosinophilen Granulozyten wurde der FITC markierte CD 16 Oberflächenmarker der Firma IMMUNOTECH, Marseille verwendet. CD 16 stellt den komplementären Anteil für den Fc-Teil des IgG dar. Er wird auf neutrophilen Granulozyten, NK-Zellen, Monozyten und Makrophagen exprimiert. Die eosinophile Frakti-

on konnte im Ausschlussverfahren ermittelt werden. Dazu wurde zunächst im FSC/SSC-Dot-Plot die Granulozytenfraktion der peripheren Blut- bzw. Sulkus-suspension in eine Region eingegrenzt (Abb. 3). Der Bereich dieser Region wurde anschließend im FL 1 (FITC) /SSC-Dot-Plot analysiert. Die CD16 negativen und gleichzeitig im oberen Skalenteil des SSC lokalisierten Ereignisse waren als eosinophile Granulozyten identifizierbar (Abb.4).

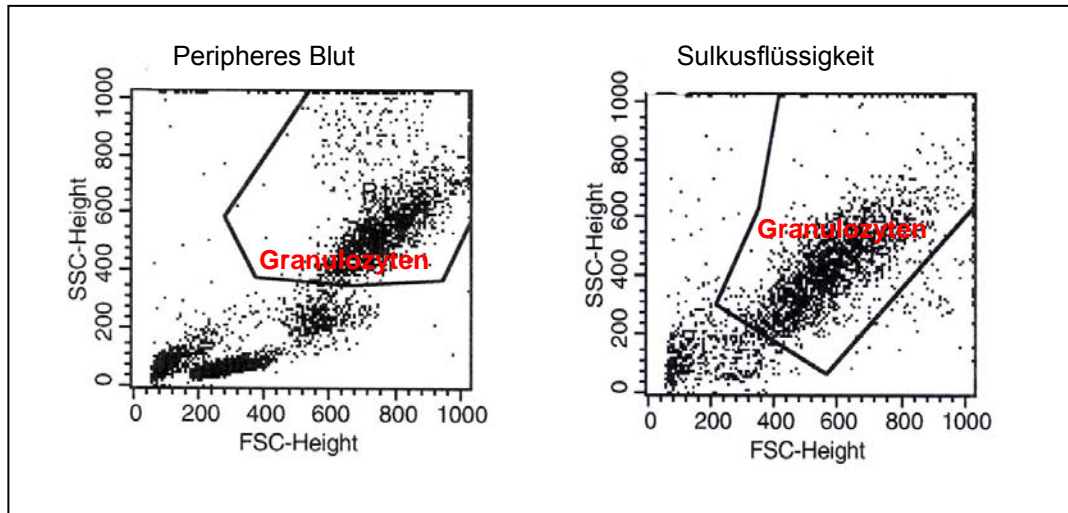


Abb. 3: FSC/SSC-Dot-Plot der peripheren Blut- und Sulkusflüssigkeit

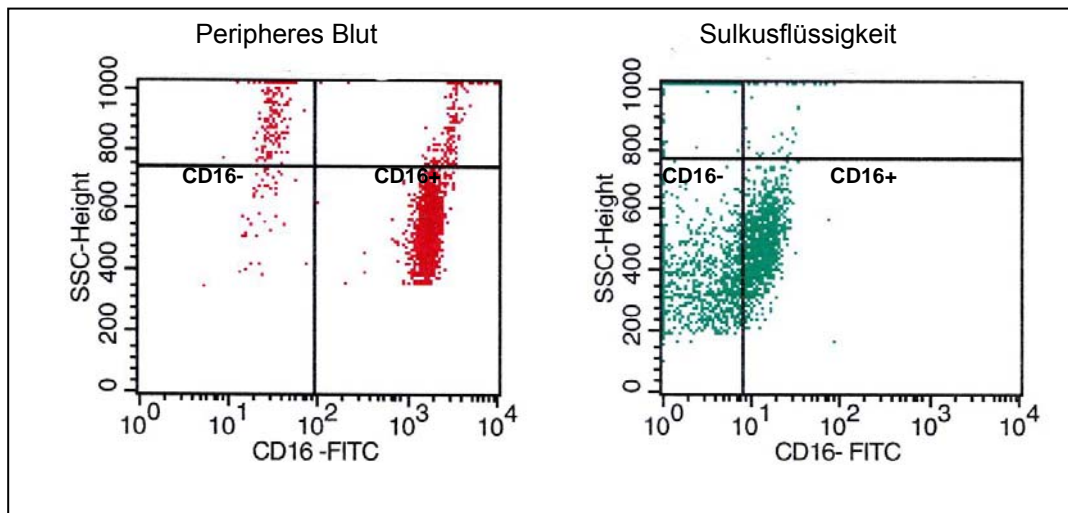


Abb. 4: FL1/SSC-Dot-Plot bezogen auf die Granulozytenregionen

Die Datenaufnahme und Weiterverarbeitung erfolgte mit dem Programm CELLQUEST (BD, Heidelberg, Deutschland)

4.4 Statistische Verfahren

Anhand der ermittelten Daten sollte festgestellt werden, ob bei Patienten mit Parodontitis und Allergie bestimmte immunologische Komponenten nachweisbar sind, die auch für eine spezifische pathogenetische Auffälligkeit sprechen.

Es stellte sich die Frage, ob die vorliegenden Stichproben hinsichtlich ihrer Mittelwerte signifikante Unterschiede aufweisen. Um dies zu untersuchen, wurden die parameterfreien Tests nach Mann-Whitney und Kruskal-Wallis verwendet. Der Mann-Whitney U-Test kam zur Anwendung, um jeweils zwei unabhängige Stichproben und der Kruskal-Wallis-Test, um n unabhängige Stichproben zu überprüfen. Die Nullhypothese lautete für beide Tests gleich: „die Stichproben gehören zur gleichen Grundgesamtheit“. Ein signifikanter Unterschied zwischen den untersuchten Stichproben wurde für eine Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 0,05 angenommen. In diesem Fall wurde die Nullhypothese verworfen.

Unterschiede innerhalb einer Probandengruppe wurden mit dem Test für verbundene Stichproben, den Wilcoxon-Test, auf Bestand der Nullhypothese geprüft.

Die analytische Statistik erfolgte unter Anwendung des Statistikprogramms SPSS® 12.0 für Windows XP.

5 Ergebnisse

Im Rahmen der deskriptiv-statistischen Auswertung wurden für die 4 Untersuchungsgruppen aggressive Parodontitis mit Allergie, aggressive Parodontitis ohne Allergie, die Kontrollgruppe parodontal gesunde Probanden mit Allergie, sowie die Kontrollgruppe parodontal gesunde Probanden ohne Allergie jeweils die wichtigsten statistischen Kenngrößen bzgl. der 9 gemessenen Parameter T-Lymphozyten (CD3), T-Helfer-Lymphozyten (CD4+), T-Suppressor-Lymphozyten (CD8+), B-Lymphozyten (CD19+), IL2-Rezeptor (CD122), IL4-Rezeptor (CD124), IL6-Rezeptor (CD130), IL5-Rezeptor (CD125) und eosinophile Granulozyten (CD16-) für das Blut und für die Sulkusflüssigkeit berechnet. Die Ergebnisse sind in den folgenden Abbildungen und Tabellen zusammengefasst.

5.1 Ausgewählte immunologische Parameter in Abhängigkeit von den Untersuchungsgruppen

5.1.1 Lymphozytensubpopulationen

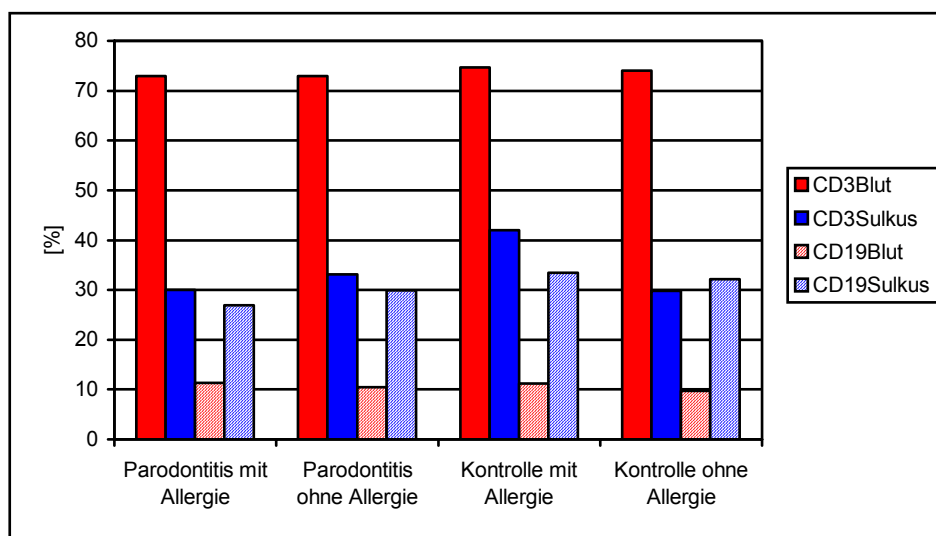


Abb. 5: Lymphozytensubpopulationen im Blut und in der Sulkusflüssigkeit in Abhängigkeit von den Untersuchungsgruppen

In allen Gruppen waren sowohl im Blut als auch im Sulkus ähnliche Profile der Lymphozytensubpopulationen zu beobachten. Betrachtet man die Verteilung der B-Zellen, so fällt auf, dass die lokalen Werte (Sulkus) der B-Lymphozyten (CD19+) gegenüber denen des peripheren Blutes deutlich erhöht waren. In umgekehrter Weise trifft dies auch für die T-Lymphozyten (CD3+) zu: hier waren höhere systemische Werte zu beobachten (Abb. 5). Das Ergebnis der lokalen B-Zelldominanz spiegelte

sich speziell in der CD3/CD19 Ratio wieder (Abb.6), die einen signifikanten Unterschied für alle Gruppen bei dem Vergleich zwischen Blut und Sulkusflüssigkeit aufwies.

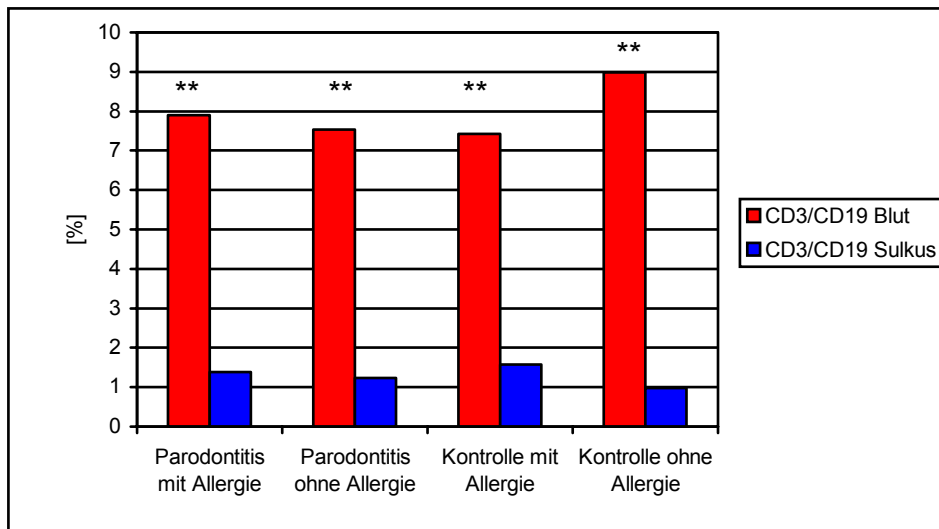


Abb. 6: CD3/CD19 Ratio im Blut und in der Sulkusflüssigkeit in Abhängigkeit von Untersuchungsgruppen (**p < 0,001, Wilcoxon)

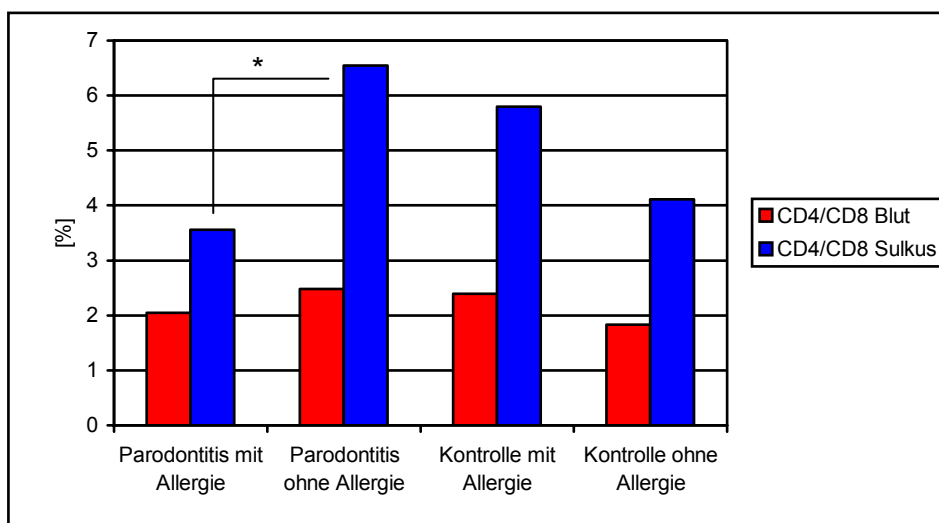


Abb. 7: CD4/CD8 Ratio im Blut und in der Sulkusflüssigkeit in Abhängigkeit von den Untersuchungsgruppen (*p<0,01, Mann-Whitney U-Test)

Wie in Abb. 7 dargestellt, waren für alle Untersuchungsgruppen annähernd gleiche Werte bezüglich der CD4/CD8 Ratio des peripheren Blutes feststellbar. Im Untersuchungsmedium Sulkusflüssigkeit zeichnete sich jedoch zwischen den Gruppen Parodontitis mit Allergie und Parodontitis ohne Allergie ein signifikanter Unterschied

für das Niveau der CD4/CD8 Ratio ab, d.h. die sulkuläre CD4/CD8 Ratio war in der Parodontitisgruppe mit Allergie vermindert.

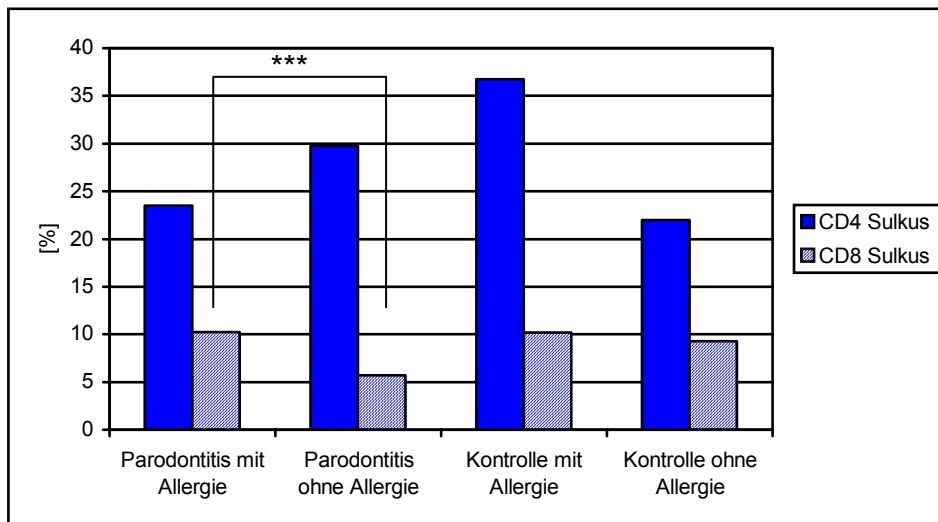


Abb. 8: T-Helfer- (CD4+) und T-Suppressorzellen (CD8+) in der Sulkusflüssigkeit
 (**p < 0,05, Mann-Whitney U-Test)

Außerdem wurde für die T-Suppressor-Zellzahl (CD8+) in der Sulkusflüssigkeit der Parodontitisgruppe mit Allergie eine signifikante Erhöhung der gegenüber der Parodontitisgruppe ohne Allergie festgestellt.

5.1.2 Interleukinrezeptoren IL2, IL4, IL5 und IL6

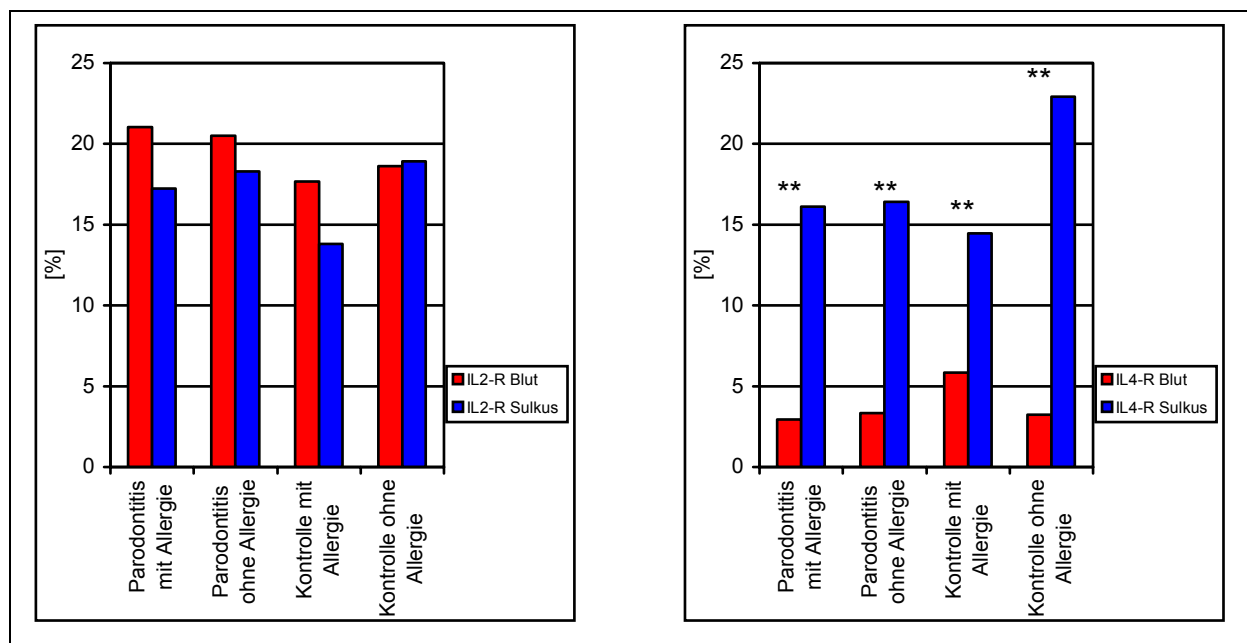


Abb. 9: Interleukinrezeptoren IL2 und IL4 der mononukleären Zellen des Blutes und der Sulkusflüssigkeit (**p<0,001 Wilcoxon-Test)

Es zeigte sich, dass sowohl für die systemischen als auch für die lokalen IL2- bzw. IL4-Rezeptorwerte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen nachweisbar waren. Auch bei der Differenzierung nach den unterschiedlichen Untersuchungsmedien (peripheres Blut / Sulkusflüssigkeit), waren annähernd gleiche Profile für die IL2-Rezeptoren messbar. Allerdings konnten für alle Gruppen beim Vergleich der sulkulären Zellen mit denen des peripheren Blutes signifikant erhöhte IL4-Rezeptorwerte in der Sulkusflüssigkeit festgestellt werden (Abb.9).

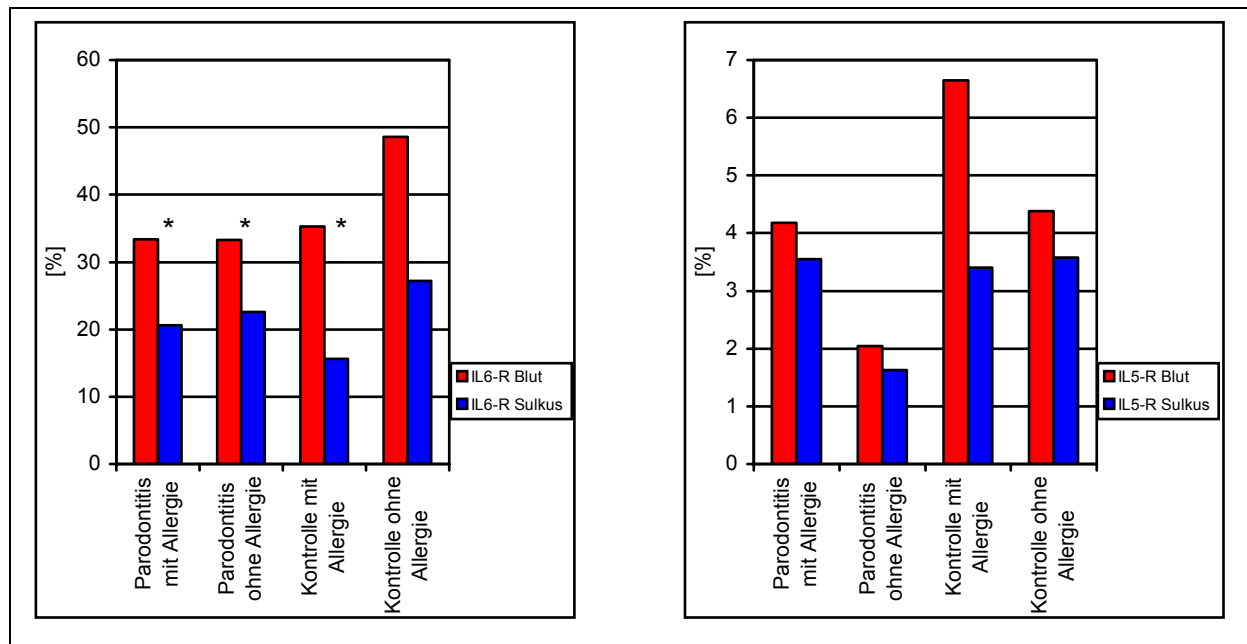


Abb.10: Interleukinrezeptoren IL6 und IL5 der mononukleären Zellen im Blut und in der Sulkusflüssigkeit (* $p < 0,01$, Kruskal-Wallis-Test)

Der IL6-Rezeptor wurde an mononukleären Zellen des Sulkus signifikant seltener exprimiert als an denen des Blutes. Die systemischen Werte für diesen Rezeptor wiesen in den Gruppen Parodontitis mit Allergie, Parodontitis ohne Allergie und der Kontrollgruppe mit Allergie signifikant reduzierte Werte gegenüber der Kontrollgruppe ohne Allergie auf (Abb.10 li.).

Für die Rezeptorwerte des TH2-Interleukins IL5 ließ sich sowohl im peripheren Blut als auch in der Sulkusflüssigkeit der Parodontitisgruppe ohne Allergie eine tendenzielle Verminderung im Vergleich zur Parodontitisgruppe mit Allergie ermitteln (Abb.10 re.). Dieser Zusammenhang konnte allerdings nicht als signifikant bestätigt werden.

5.1.3 Eosinophile Granylozyten

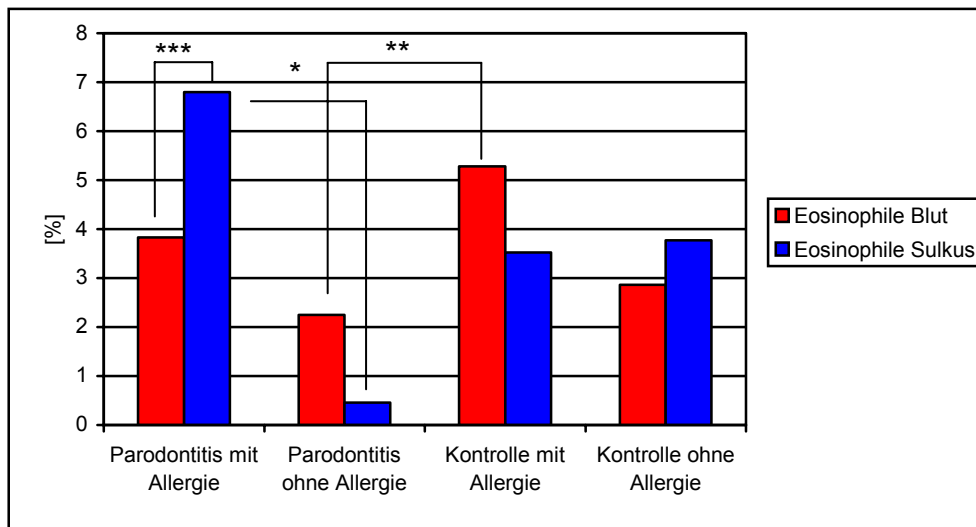


Abb.11: Eosinophile Granulozyten im Blut und in der Sulkusflüssigkeit im Abhängigkeit von den Untersuchungsgruppen (*p < 0,001, **p<0,05,Mann-Whitney U-Test; ***p < 0,05, Wilcoxon)

Die Analyse der eosinophilen Granulozytenfraktionen lieferte besonders interessante Ergebnisse (Abb.11). Es wurde in der Parodontitisgruppe ohne Allergie eine geringere Anzahl eosinophiler Granulozyten im peripheren Blut beobachtet als in der Kontrollgruppe mit Allergie. Dieser Unterschied konnte nach Prüfung mit dem Mann-Whitney U-Test zwischen der Parodontitisgruppe ohne Allergie und der Kontrollgruppe mit Allergie als signifikant bestätigt werden. In der Parodontitisgruppe mit Allergie wurde außerdem eine signifikante Erhöhung der eosinophilen Granulozytenzahl in der Sulkusflüssigkeit gegenüber dem peripheren Blut ermittelt. Dieser Anstieg der lokalen eosinophilen Granulozyteninfiltration in der Parodontitisgruppe mit Allergie auf ca. 7% der Gesamtgranulozytenzahl, erwies sich auch gegenüber dem deutlich geringeren Anteil (ca. 0,5%) in der Parodontitisgruppe ohne Allergie als hoch signifikant.

5.2 Ausgewählte immunologische Parameter in Abhängigkeit von der Allergieform

Die bisherigen Ergebnisse zeigen, dass die untersuchten Parameter des peripheren Blutes wie T-Lymphozytenzahl, B-Lymphozytenzahl und die Interleukinrezeptoren für IL2 und IL4, gleiche Proportionen in den Untersuchungsgruppen aufweisen. Unterschiede zwischen den Gruppen konnten speziell für die sulculären Marker von Parodontitispatienten mit Allergie und ohne Allergie ermittelt werden. Um auch vorhandene Beziehungen zu den Formen der allergischen Erkrankungen herauszuarbeiten, wurden die Untersuchungsgrößen CD4/CD8 Ratio, IL5-Rezeptor und eosinophile Granulozytenzahl in Abhängigkeit vom Allergietyp analysiert.

5.2.1 CD4/CD8 Ratio

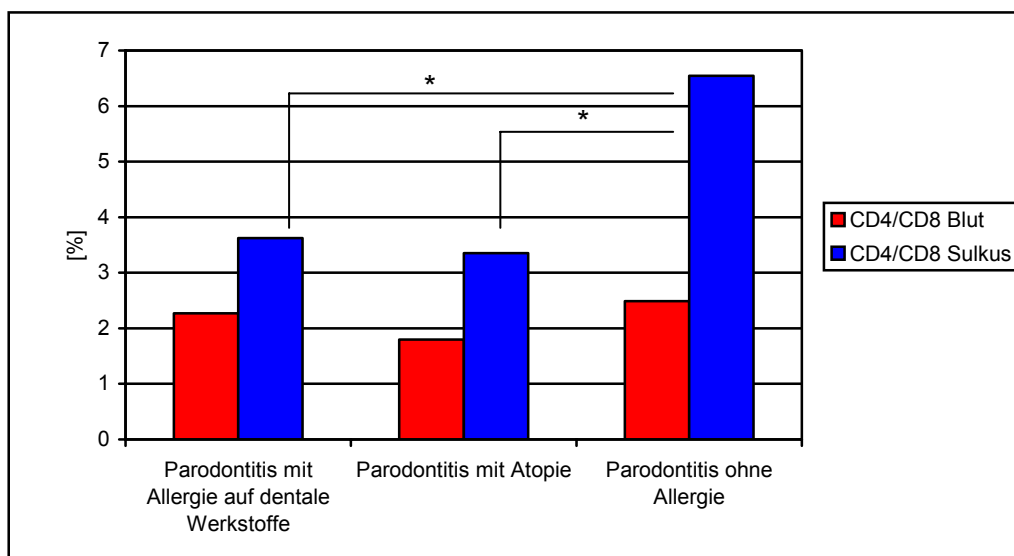


Abb.12: CD4/CD8 Ratio im Blut und in der Sulkusflüssigkeit in Abhängigkeit von der Allergieform (* $p < 0,05$, Mann-Whitney U-Test)

In Abb. 12 ist die CD4/CD8 Ratio in Abhängigkeit von der Allergieform dargestellt. Es zeigte sich, dass die sulculären CD4/CD8 Ratio der Parodontitisgruppe mit Atopie bzw. mit Allergie auf dentale Werkstoffe gegenüber der Gruppe ohne Allergie signifikant reduziert waren.

5.2.2 T-Helferzellen und T-Suppressorzellen

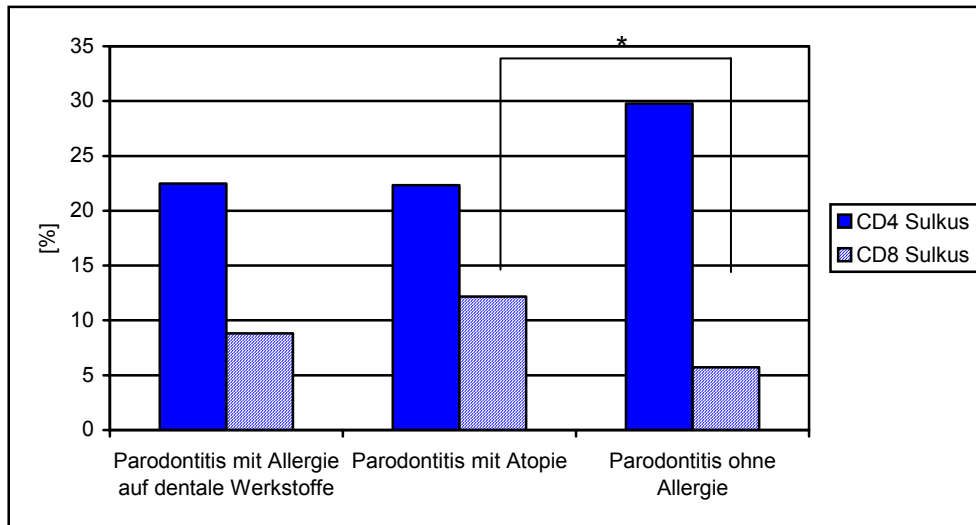


Abb.13: T-Helfer- und T-Suppressorzellen in der Sulkusflüssigkeit in Abhängigkeit von der Allergieform (*p<0,05, Mann-Whitney U-Test).

Wie in der Abb. 13 zu sehen ist, konnte in der Gruppe der Parodontitispatienten mit Atopie eine signifikant erhöhte T-Suppressorzellzahl (CD8+) in der Sulkusflüssigkeit im Vergleich zur Gruppe der Parodontitispatienten ohne Allergie nachgewiesen werden.

5.2.3 Interleukin 5-Rezeptor

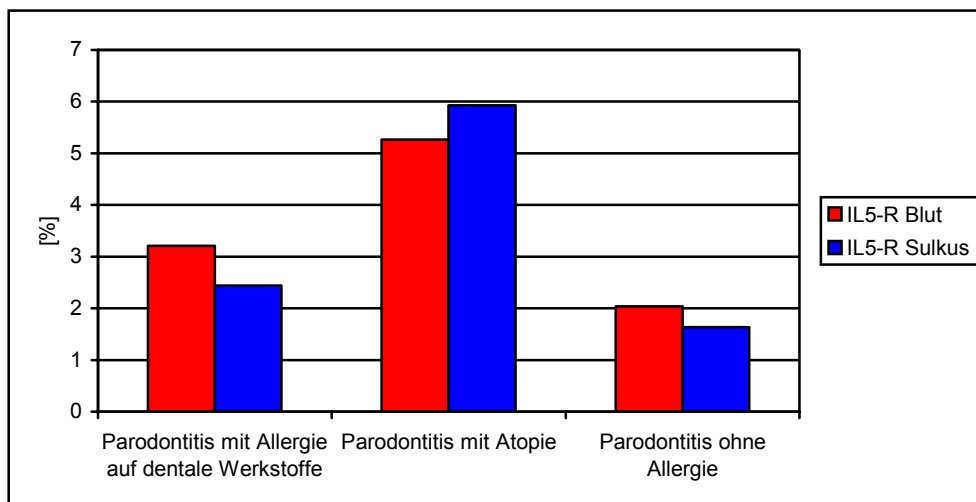


Abb.14: Interleukinrezeptor IL5 im Blut und in der Sulkusflüssigkeit

Betrachtet man die IL5-Rezeptorprofile in der Abb. 14 im peripheren Blut und in der Sulkusflüssigkeit, so fällt die tendenzielle Erhöhung dieses Parameters in der Gruppe der Parodontitispatienten mit Atopie gegenüber den beiden anderen dargestellten Untersuchungsgruppen auf. Signifikante Unterschiede wurden allerdings nicht ermittelt.

5.2.4 Eosinophile Granulozyten

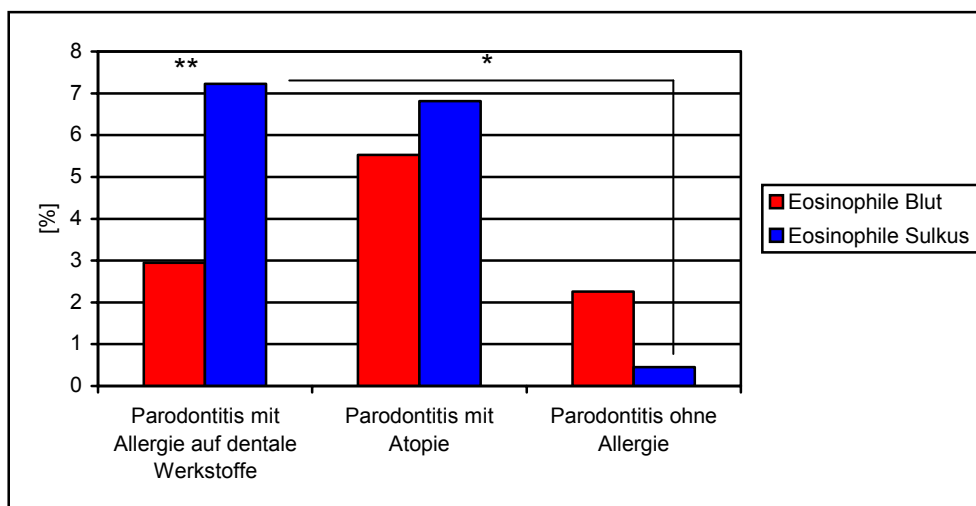


Abb.15: Eosinophile Granulozyten im Blut und in der Sulkusflüssigkeit in Abhängigkeit von der Allergieform (* $p < 0,001$, Mann-Whitney U-Test; ** $p < 0,05$, Wilcoxon)

Für die Parodontitisgruppen mit Allergien konnte ein auffällig hoher Anteil eosinophiler Granulozyten in der Sulkusflüssigkeit ermittelt werden, der sich beim Vergleich der Gruppen Parodontitis mit Allergie auf dentale Werkstoffe und Parodontitis ohne Allergie bei ersterer als signifikant erhöht herausstellte (Abb. 15).

Auch der Anstieg der Eosinophilen in der Sulkusflüssigkeit im Vergleich zum peripheren Blut konnte für die Untersuchungsgruppe Parodontitis mit Allergie auf dentale Werkstoffe als signifikant ermittelt werden.

6 Diskussion

Es fällt klinisch immer wieder auf, dass es Patienten gibt, die trotz guter Mundhygiene an einer Parodontitis erkranken und andere, die trotz schlechter Mundhygiene keine Parodontitis entwickeln. Demnach kann das Ausbrechen bzw. der Verlauf einer Parodontalerkrankung nicht allein von der mikrobiellen Infektion abhängen. Es scheint besondere Bedingungen zu geben, die das individuelle Risiko für die entzündliche Parodonterkrankung maßgeblich beeinflussen.

In diesem Kontext wurde in den vergangenen Jahren eine ganze Reihe von Risikofaktoren ermittelt. In einigen Fällen konnte jedoch der Zusammenhang zwischen der Pathogenese einer Parodontitis und dem Risikofaktor bisher nicht ausreichend gesichert werden.

Zu den bislang wissenschaftlich anerkannten Risikofaktoren zählen u.a. der chronische Nikotinabusus und der Diabetes mellitus sowohl vom Typ I als auch vom Typ II (Kornman et al. 2000; Salvi et al. 1997). Zu weiteren Risikoparametern gehören der psychosoziale Stress, die Infektion mit parodontalpathogenen Bakterien, Osteoporose und auch die HIV-Infektion (Salvi et al. 1997; Krejci et al. 2000).

Die Pathogenese der Parodontitiden basiert nach dem Modell des „critical pathway“ auf einem komplexen Zusammenspiel zwischen Mikroorganismen und dem Immunsystem des Wirts. Die Effizienz der Immunantwort hängt demnach zum einen von der Pathogenität der Bakterien, zum anderen von internen und externen Einflüssen auf den Wirtsorganismus ab. Einzelne Risikofaktoren zu ermitteln, ist bei einem so komplexen und von vielen Faktoren beeinflussten Prozess der derzeit wissenschaftlich akzeptierte Weg.

In jüngster Zeit hat man u.a. versucht, einzelne genetische Risikofaktoren, die an der Modulation der Immunantwort beteiligt sind, zu bestimmen (Hart et al. 1997). Dabei ist beispielsweise der Interleukin 1 Polymorphismus von besonderer Relevanz.

In der Literatur wird immer wieder die Frage einer möglichen allergischen Komponente der Parodontitis aufgeworfen (Bruce et al. 1995, Alanko et al. 1996). Es gibt auch zunehmend Hinweise auf mögliche pathogenetische Gemeinsamkeiten zwischen allergischen Erkrankungen und chronischen Infektionen unterschiedlicher Genese.

Sigusch (2003) beschreibt eine verstärkte TH2-Zytokin-Expression mononukleärer Zellen des peripheren Blutes bei Patienten mit aggressiver Parodontitis. Diese könnte für eine vom bakteriellen Geschehen der Parodontitis möglicherweise primär un-

abhängige entzündliche Reaktionsbereitschaft sprechen. Deshalb werden in jüngster Zeit auch Pathogenesekonzepte der Parodontitis diskutiert, die auf allergischen bzw. autoimmunogenen Mechanismen beruhen könnten (Champaiboon et al. 2000).

Die Klärung der Frage, ob Allergien auch die parodontalen Destruktionprozesse, d.h. die Parodontitis beeinflussen können, erscheint nicht zuletzt auch im Hinblick auf die Entwicklung neuer präventiver Diagnosemethoden bzw. Therapieansätze wünschenswert.

Um mögliche Auffälligkeiten immunologischer Parameter bei Parodontitispatienten mit gleichzeitig bekannten allergischen Erkrankungen zu untersuchen, wurde der Anteil eosinophiler Granulozyten, B-Zellen, T-Zellen, sowie die Zytokinrezeptorprofile mononukleärer Zellen für IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, im peripheren Blut und in der Sulkusflüssigkeit von Parodontitispatienten mit und ohne Allergie untersucht. Bei den bekannten allergischen Erkrankungen handelte es sich speziell um die Atopie und die Allergie auf dentale Werkstoffe.

Bisher existieren nicht wenige immunologische Studien, die u.a. zeigen, dass ein Zusammenhang zwischen der lokalen Lymphozyteninfiltration und dem Entzündungsgrad des Parodonts besteht. Eine bedeutende Rolle spielt dabei die Verteilung zwischen B- und T-Lymphozyten (Brandtzaeg 1973, Seymour et al. 1979, Reinhardt et al. 1988).

In der vorliegenden Arbeit wurde ein höherer Anteil sulkulärer B-Lymphozyten sowohl bei den Parodontitispatienten als auch bei den Kontrollpersonen im Vergleich zu den Zellzahlen des Blutes beobachtet. Das spricht insgesamt für den Sulkus als den Ort der verstärkten Immunabwehr. Bei den T-Lymphozytenzahlen (gesamt/CD3) verhielt es sich allerdings genau umgekehrt.

Auch Tew et al. (1989) konnten nachweisen, dass B-Zellen bzw. Plasmazellen bei Patienten mit Parodontitis in der Läsion dominieren und eng mit der Erkrankung assoziiert sind. Amer et al. (1990) beschrieben bei Patienten mit schwerer destruktiver Parodontitis eine gesteigerte B-Zell-Proliferation.

Ergebnisse von Afar et al. (1992), die bei aggressiver Parodontitis speziell eine Subpopulation der B-Lymphozyten, die Untergruppe CD20⁺CD5⁺ fanden, welche für Sezernierung von Autoantikörpern verantwortlich sind, unterstützt die besondere Rolle der B-Zellen. So findet man diese Zellart beispielsweise auch vermehrt im peripheren Blut von Patienten mit Rheumatoidarthritis, Sjögren-Syndrom und progressiver Sklerodermie. In der vorliegenden Arbeit waren keine Auffälligkeiten bei Parodontitispatienten bezüglich der B-Lymphozytenzahlen des peripheren Blutes zu beobachten.

Der Nachweis einer verstärkten B-Zellinfiltration im sulkulären Bereich muss allerdings nicht auf eine autoimmunogene Komponente hinweisen.

Yamazaki et al. (1995) und Berglundh et al. (2002) haben bei Parodontitispatienten erhöhte Anteile von B-Lymphozyten sowohl im peripheren Blut als auch in der Sulkusflüssigkeit nachgewiesen, was sie insgesamt als eine Verstärkung der humoralen Immunantwort interpretieren (Harrell et al. 1995).

In der vorliegenden Studie konnte nachgewiesen werden, dass die CD3/CD19 bzw. T-Zell/B-Zell Ratio im peripheren Blut gegenüber der Sulkusflüssigkeit bei allen Untersuchungsgruppen signifikant erhöht war. Ursächlich hierfür sind die höheren CD19+ B-Lymphozytenzellzahlen im Sulkus im Vergleich zum Blut und die höheren T-Zellzahlen im Blut als in der Sulkusflüssigkeit. Es konnte gezeigt werden, dass im peripheren Blut der T-Zell-Anteil und im Sulkus der Anteil der B-Lymphozyten überwiegt.

Auch Stoufi et al. (1987) stellten fest, dass der Anteil der B-Lymphozyten im entzündeten parodontalen Gewebe mit etwa 48% signifikant höher liegt als im peripheren Blut (17-23%). Dies deckt sich mit den Ergebnissen dieser Arbeit, die ebenfalls für eine erhöhte B-Zellanzahl gegenüber dem peripheren Blut sprechen.

Allerdings konnten kaum Unterschiede bezüglich der B-Lymphozytenzahl in der Sulkusflüssigkeit zwischen den Untersuchungsgruppen nachgewiesen werden. Eine Ursache für die B-Zell Dominanz in der parodontalen Tasche bzw. im gingivalen Sulkus ist wahrscheinlich darin zusehen, dass der sulkuläre Bereich einer permanenten und starken bakteriellen Exposition ausgesetzt ist und aus diesem Grund eine stärkere Immunzellinfiltration auch unter gesunden Bedingungen stattfindet.

Gamonal et al. (2001) beobachteten in der Gingiva von Parodontitispatienten erhöhte T-Lymphozytenzahlen (CD3, CD4, CD8) im Vergleich zum Gingivagewebe gesunder Probanden, allerdings unterschied sich die B-Zellzahl (CD19) im erkrankten bzw. gesunden Parodontium nicht. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung.

Loos et al. (2004) untersuchten Parodontitispatienten bzgl. eines möglichen pathogenetischen Zusammenhangs zwischen dem Rauchen und einer parodontalen Destruktion. Die Autoren konnten keine signifikant erhöhten B-Lymphozytenzahlen im peripheren Blut bei Parodontitispatienten im Vergleich zur Kontrollgruppe nachweisen, allerdings wurden die sulkulären B-Lymphozyten nicht untersucht. Obwohl in der vorliegenden Arbeit Raucher nicht untersucht wurden, lässt sich feststellen, dass die Ergebnisse bzgl. des peripheren Blutes ähnlich sind.

Die nachgewiesenen hohen B-Lymphozytenzahlen in der Sulkusflüssigkeit gesunder und parodontal erkrankter Probanden der vorliegenden Arbeit, könnten mit der IL4 bzw. IL4-Rezeptorexpression im Zusammenhang stehen. Es wurden u.a. erhöhte IL4-Rezeptor-Werte mononukleärer Sulkuszellen nachgewiesen. IL4 ist ein von TH2-Zellen gebildetes Interleukin, welches eine wichtige regulative Funktion bei der Immunoglobulinproduktion durch B- bzw. Plasmazellen spielt. Untersuchungen von Yamazaki et al. (1993) unterstützten diesen Zusammenhang. Die Autoren konnten im Parodontitisgewebe eine deutlich erniedrigte CD3/CD19 Ratio sowie eine positive Korrelation zwischen dieser Ratio und den IL4-produzierenden Zellen nachweisen.

Auch autoreaktive B-Zellen werden durch IL4 zur polyklonalen Expansion angeregt. Erb et al. (1997) zeigten u.a. im Tierversuch, dass IL4 eine Autoimmunerkrankung triggern kann. Ob autoimmunogene Mechanismen in der Pathogenese der Parodontitis eine Rolle spielen wird seit geraumer Zeit diskutiert. Sigusch et al. (1998) vermuten ebenfalls, dass es einen möglichen Zusammenhang zwischen der B-Zell-Expansion und der IL4-Produktion bei Patienten mit aggressiver Parodontitis geben könnten.

Für die parodontale Läsion wurde von verschiedenen Autoren eine verminderte CD4/CD8-Ratio beschrieben (Okada et al. 1982, Taubman et al. 1984, 1988, Stoufi et al. 1987). Eine signifikante Reduktion des Quotienten CD4/CD8 konnte im Rahmen der vorliegenden Arbeit speziell für die Gruppe Parodontitis mit Allergie in der Sulkusflüssigkeit nachgewiesen werden. Bei Vorliegen etwa gleicher CD4-Zellzahlen in allen Untersuchungsgruppen ist die Veränderung der CD4/CD8 Ratio auf die Erhöhung der CD8+ Zellen speziell in der Parodontitisgruppe mit Allergie zurückzuführen. Es konnte nachgewiesen werden, dass die Zahl der T-Suppressorzellen bei Parodontitispatienten mit Allergie signifikant erhöht ist.

So beobachteten auch Fujihashi et al. (1993), für die Parodontalläsion, dass mit Zunahme der zellulären Infiltration, die CD4/CD8 Ratio durch den Anstieg der T-Suppressorzellen abnahm, ohne das allerdings in dieser Studie zwischen Parodontitispatienten mit und ohne Allergie unterschieden wurde. Der Anstieg der T-Suppressorzellen (CD8+) am Ort der lokalen Abwehr könnte eine Reaktion auf eine lokal gesteigerte T-Helferzellaktivität sein, die sich bei Parodontitispatienten in Form einer vermehrten TH2-Zytokinproduktion zeigt (Sigusch et al. 1998).

Es ist bekannt dass die TH2-Zellen in der Pathogenese allergischer Erkrankungen u.a. eine Rolle spielen (Sornasse 1996, Del Prete et al. 1998). TH2-Zellen exprimieren besonders IL4 und IL5. Inzwischen konnte gezeigt werden, dass in der Pathoge-

nese der Allergie diesen Zytokinen eine Schlüsselrolle zukommt, da sie u.a. bei B-Zellen zu einer vermehrten IgE-Produktion führen können (Koning et al. 1996). Neben dem IL4 spielt bei allergischen Reaktionen aber auch das IL5 eine entscheidende Rolle. Vowel et al. (1995) beobachteten u.a. eine deutlich erhöhte IL4-mRNA Expression in Hautläsionen, die auf einer TypIV-Hypersensibilisierung beruhen. Robinson et al. (1992) konnten beispielsweise zeigen, dass das allergische Asthma eng mit einer gesteigerten TH2-Zytokinproduktion assoziiert ist. Es ist bekannt, dass bei Atopikern die Eosinophilenzahlen erhöht sind. Dies verwundert nicht, weil bei einer TH2-Immunantwort typischerweise IL5 exprimiert wird, welches die Eosinophilen chemotaktisch anlockt, sowie zur Vermehrung und Ausdifferenzierung anregt (Wang et al. 1999).

Eine Allergie auf dentale Werkstoffe ist bekannterweise eine verzögerte allergische Reaktion vom Typ 4 (Artik et al. 2001). Es wird diskutiert, dass bei der Typ 4-Reaktion möglicherweise die TH1-Antwort dominiert (Tsicopoulos et al., 1992). IL2, IFN-gamma und TNF-beta werden typischerweise bei einer TH1-Antwort exprimiert (Del Prete 1992). Dies erklärt die Ergebnisse aus Abb. 14, die eine verminderte IL5-Rezeptorexpression für Patienten mit Allergie auf dentale Werkstoffe und Parodontitis im Vergleich zu den Atopikern zeigten. Die erhöhten Eosinophilenzahlen im Sulkus bei Patienten mit einer Allergie auf dentale Werkstoffe können allerdings hier nicht durch eine TH1-dominante allergische, verzögerte Reaktion vom Typ 4 erklärt werden. Erhöhte Eosinophilenzahlen beruhen nach Teixeira et al. (2001) stattdessen vielmehr darauf, dass bei einer allergischen Reaktion vom verzögerten Typ 4 (TH1-dominiert) indirekt-entstehende Chemoattraktantien für Eosinophile generiert werden. Betrachtet man die Zahlen für die eosinophilen Granulozyten in der vorliegenden Arbeit, so fällt auf, dass die Parodontitisgruppe mit Allergie deutlich erhöhte Eosinophilenzahlen in der Sulkusflüssigkeit aufweist, was den Hinweis für eine allergische Komponente bei Patienten mit aggressiver Parodontitis unterstützt.

Auch in der aktuellen Literatur findet man zunehmend Hinweise auf mögliche pathogenetische Zusammenhänge zwischen allergischen Erkrankungen und chronisch entzündlichen Infektionen. So wurden in einer Studie von Chen et al. (2001) 8723 Kinder und ihre Eltern bzgl. Allergien wie Asthma, allergische Rhinitis, atopische Dermatitis und infektiöse Erkrankungen wie Lungenentzündung, Bronchitis, Otitis media und Sinusitis anamnestisch befragt. Es wurde eine signifikant erhöhte Prävalenz infektiöser Erkrankungen bei Kindern mit nachgewiesener Allergie ermittelt. Die-

se Ergebnisse deuten nach Ansicht der Verfasser auf eine pathogenetische Beeinflussung infektiöser Erkrankungen durch die Allergie hin.

Als besonderes Merkmal bei allergischen Erkrankungen wie Asthma bronchiale, allergischer Rhinokonjunktivitis und Ekzeme der Haut konnten erhöhte IgE Spiegel gegenüber nicht Erkrankten festgestellt werden (Herrstrom et al. 1997).

Braunstrahl et al. (2000) untersuchten Patienten mit Asthma und allergischer Rhinitis auf einen möglichen Zusammenhang zwischen der allergischen Erkrankung und klinischen Entzündungszeichen. Bei Atopikern wurden im Vergleich mit einer gesunden Kontrollgruppe erhöhte Zahlen der eosinophilen Granulozyten bzw. eine verstärkte IL5-Expression im Blut sowie in der Nasenschleimhaut beobachtet.

Gelfand (2004) beschrieben für das IL5 bzw. die in Folge verstärkte Infiltration der eosinophilen Granulozyten, eine besondere Rolle bei der chronischen Entzündung. So könnte auch speziell in der Gruppe der Patienten mit aggressiver Parodontitis und Allergie, wie in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen, die verstärkte Infiltration mit Eosinophilen eine besondere pathogenetische Komponente darstellen.

Über die besondere Bedeutung des TH2-Zytokins IL5 als Mediator bei allergischen bzw. chronischen Entzündungen berichteten auch Velanquez et al. (2004). Speziell seine Rolle als Eosinophilenwachstumsfaktor ist bekannt (Simon et al. 1999, Wang et al. 1999).

Auch Sigusch et al. (1998) beschreiben bei aggressiver Parodontitis im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe eine signifikant erhöhte IL5-Expression mononukleärer Zellen des peripheren Blutes und diskutieren eine mögliche allergische Komponente bei diesen Patienten.

Cutler et al. (1999) weisen auch auf interessante Parallelen zwischen der parodontalen Entzündung und der Kontakthypersensibilisierung hin. Sowohl die Parodontitis als auch die Allergie werden durch die Aktivierung bzw. Sensibilisierung von antigenpräsentierenden Zellen bzw. durch bestimmte T-Zell-Subpopulationen beeinflusst.

Parronchi et al. (1992) konnten deutlich zeigen, dass T-Zellklone aus dem peripheren Blut von nichtatopischen Patienten kein IL5 produzieren, die Patienten mit Atopie aber deutlich nachweisbare Mengen dieses TH2-Zytokines exprimieren. In diesem Kontext ist auch die tendenzielle Erhöhung der Blut bzw. Sulkus IL5-Rezeptorwerte bei den Parodontitispatienten mit Atopie im Vergleich zu denen ohne Allergie erklärbar.

Es ist einerseits bekannt, dass Gingipaine und Lipopolysaccharide von *Porphyromonas gingivalis* eine TH2-Antwort verursachen (Yun et al. 2003, Jotwani et al. 2003).

Andererseits gilt inzwischen aber auch als sicher (Del Prete 1992), dass die Atopie mit einer TH2-Antwort einhergeht. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sprechen für eine mögliche Überlappung beider Phänomene. Patienten mit Atopie und aggressiver Parodontitis zeigen tendenziell erhöhte IL5-Rezeptorwerte im Blut und Sulkus und eine deutlich gesteigerte Eosinophilenzellzahl speziell im sulkulären Bereich.

Auch Fujihashi et al. (1993) untersuchten die TH2-Zytokinexpression mononukleärer Zellen der Gingiva bzw. des peripheren Blutes von Parodontitispatienten und ermittelten ebenfalls erhöhte IL5-Konzentrationen in der Gingiva.

Es ist bekannt, dass das IL5 eine entscheidende Rolle bei der Migration bzw. Aktivierung der Eosinophilen in der lokalen Läsion spielt bzw. auch an der Auslösung einer zellvermittelten Sensibilisierungsreaktion des verzögerten Typs unmittelbar beteiligt ist.

Simon et al. (1996) gehen davon aus, dass u.a. die beim Asthma bronchiale spezifische Anreicherung der Eosinophilen bzw. die ausgeprägte Eosinophileninfiltration des Gewebes durch eine verzögerte Apoptose ausgelöst wird. In diesem Zusammenhang spielt die regulatorische Funktion des IL5 eine dominierende Rolle. Pathogenetisch wird die vermehrte Gewebeseosinophilie durch eine gesteigerte transendotheliale Migration und durch Inhibierung des programmierten Zelltodes (Apoptose) durch das IL5 erklärt (Bachert et al. 1997, Simon et al. 1997). Ob möglicherweise ähnliche Mechanismen bei Parodontitis eine Rolle spielen, ist bisher allerdings unklar.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen eine erhöhte Eosinophileninfiltration in die Sulkusflüssigkeit von Parodontitispatienten mit Allergie. Auch Suzuki et al. (1995) beobachteten eine erhöhte Eosinophileninfiltration des gingivalen Gewebes bei Parodontitispatienten und sie wiesen einen 10fach erhöhten IgE-Titer in der Sulkusflüssigkeit im Vergleich zu entsprechenden Kontrollpersonen nach, ohne allerdings zu berücksichtigen, ob die Probanden auch eine Allergie hatten.

Betrachtet man die ermittelten Zellzahlen eosinophiler Granulozyten in der vorliegenden Arbeit, so fallen in der Gruppe der Parodontitispatienten mit Allergie die signifikant höhere Eosinophilenzahl in der Sulkusflüssigkeit gegenüber dem peripheren Blut auf. Dieser Befund spricht für eine spezifische lokale Abwehrreaktion im Parodont dieser Untersuchungsgruppe, die Charakteristika einer allergischen Komponente aufweist. Auch Sugita et al. (1993) bestimmten bei Patienten mit aggressiver Parodontitis im Sulkus eine erhöhte Zellzahl eosinophiler Granulozyten gegenüber dem peripheren Blut aber auch beim Vergleich mit den gesunden Kontrollen. Sie un-

tersuchten 24 Patienten mit aggressiver Parodontitis bzw. 13 gesunde Probanden und beobachteten in der Sulkusflüssigkeit eine erhöhte Eosinophilenzellzahl gegenüber der des Blutes und vermuteten, dass die eosinophilen Zellen im Sulkus eine besondere Rolle spielen. Allerdings wurden in dieser Studie Allgemeinerkrankungen wie beispielsweise die Atopie nicht berücksichtigt.

Wenn man berücksichtigt, dass die allergische Reaktion durch eine TH2-Zellaktivierung gekennzeichnet ist und, dass IL5 ein wichtiges Zytokin u.a. zur Ansammlung von Eosinophilen im Gewebe bzw. ein Eosinophilenwachstumsfaktor ist, dann kann man eine allergische Komponente in der Genese der Parodontitis nicht ausschließen.

7 Schlussfolgerungen

Die Parodontitis ist eine häufig auftretende Erkrankung, die oft zum Zahnverlust führt. Aus der Perspektive des Praktikers, aber auch aus der wissenschaftlichen, ist es wichtig, Risikofaktoren, die zu einer Parodontitis führen können, zu ermitteln. Ein solcher Faktor könnte das Vorhandensein einer Allergie als Grunderkrankung sein. Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, zu untersuchen, ob aus pathogenetischer Sicht Hinweise für einen Zusammenhang zwischen der Parodontitis und einer allergischen Erkrankung existieren. Es wurden neben dem peripheren Blut auch Komponenten der Sulkusflüssigkeit untersucht, die eine Rolle bei der lokalen Abwehr in diesem Bereich spielen.

Die ermittelten Daten sprechen dafür, dass Patienten mit einer Allergie und gleichzeitig bestehender aggressiver Parodontitis besondere immunologische Faktoren aufweisen. Es zeigten sich für die Allergiegruppen, d.h. bei Parodontitispatienten mit einer Allergie auf dentale Werkstoffe und bei denen mit einer Atopie, spezielle Auffälligkeiten hinsichtlich der immunologischen Faktoren im Sulkus, wobei die sulkuläre Eosinophilie eine besondere Bedeutung zu haben scheint.

Eine höhere Empfänglichkeit für die Parodontitis bei Allergikern lässt sich durch die vorliegenden Ergebnisse nicht nachweisen, aber eine mögliche Beteiligung allergischer Pathomechanismen bei der Entstehung der Parodontitis sind anhand der vorliegenden Ergebnisse nicht auszuschließen.

Zu empfehlen sind deshalb fortführende Studien zur weiteren Charakterisierung von immunologischen Faktoren, die die Prognose der entzündlichen parodontalen Erkrankungen bei Patienten mit Allergie beeinflussen können.

8. Literaturverzeichnis

Afar B., Engel D., Clark E.A.: Activated lymphocyte subsets in adult periodontitis
J Periodont Res 1992; 27: 126-133

Alanko K., Kanerva L., Jolanki R., Kannas L., Estlander T.: Oral mucosal diseases investigated by patch testing with a dental screening series.
Contact Dermatitis. 1996; 34: 263-267

Altman L.C, Page R.C., Vandesteen G.E., Dixon L.I., Bradford C.: Abnormalities of leukocyte chemotaxis in patients with various forms of periodontitis. J Periodontal Res. 1985; 20: 553-563

Albandar J.M., Brown L.J., Genco R.J., Löe H.: Clinical classification of periodontitis in adolescents and young adults. J Periodontol 1997; 68: 545-555

Amer A., Singh G., Darke G., Dolby A.E.: Spontaneous lymphocyte proliferation in severe periodontal disease: role of T and B cells. J Oral Pathol Med 1990; 19: 49-52

Armitage, G.C.: Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. Ann Periodontol 1999; 4: 1-6

Artik S., Haarhuis K., Wu X., Begerow J., Gleichmann E.: Tolerance to nickel: oral nickel administration induces a high frequency of anergic T cells with persistent suppressor activity. J Immunol. 2001; 167: 6794-803

Bachert C., M. Wagenmann, U. Hauser, C. Rudack: IL-5 synthesis is upregulated in human nasal polyp tissue. J. Allergy Clin. Immunol. 1997;99: 837-842

Bandmann H.J., Fregert S.: Epikutantestung. Springer Berlin 1982

Beck J.D.: Methods of assessing risk for periodontitis and developing multifactorial Models. J Periodontol 1994; 65: 468-478

Berglundh T., Liljenberg B., Tarkowski A., Lindhe J.: The presence of local and circulating autoreactive B cells in patients with advanced periodontitis.
J Clin Periodontol. 2002; 29(4): 281-286

Brandtzaeg P.: Immunology of inflammatory periodontal lesions.
Int Dent J. 1973; 23(3): 438-454

Braunstahl G.J., Kleinjan A., Overbeek S.E., Prins J.B., Hoogsteden H.C., Fokkens W.J.: Segmental bronchial provocation induces nasal inflammation in allergic rhinitis patients. Am J Respir Crit Care Med. 2000; 161(6): 2051-2057

Bruce G.J., Hall W.B.: Nickel hypersensitivity-related periodontitis.
Compend Contin Educ Dent. 1995; 16(2): 178-174

Champaiboon C., Yongvanitchit K., Pichyangkul S., Mahanonda R.: The immune modulation of B-cell responses by Porphyromonas gingivalis and interleukin-10.
J Periodontol (United States) 2000; 71: 468-475

Charon J.A., Metzger Z., Hoffeld T.J., Oliver C., Gallin J.I., Mergenhagen S.E.:
An in vitro study of neutrophils obtained from the normal gingival sulcus.
J Periodont Res 1982 ; 17: 614-625

Chaves E.S., Jeffcoat M.K., Ryerson C.C., Snyder B.: Persistent bacterial colonization of Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, and Actinobacillus actinomycetemcomitans in periodontitis and its association with alveolar bone loss after 6 months of therapy. J Clin Periodontol. 2000; 27(12): 897-903

Chen C.F., Wu K.G., Hsu M.C., Tang R.B. : Prevalence and relationship between allergic diseases and infectious diseases.
J Microbiol Immunol Infect. 2001; 34(1): 57-62

Cutler C.W., Jotwani R., Palucka K.A., Davoust J., Bell D., Banchereau J.:
Evidence and a novel hypothesis for the role of dendritic cells and Porphyromonas gingivalis in adult periodontitis. J Periodontal Res. 1999; 34(7): 406-412

Del Prete G.: Human Th1 and Th2 lymphocytes: their role in the pathophysiology of atopy. *Allergy*. 1992; 47(5): 450-455

Del Prete G.: The concept of type-1 and type-2 helper T cells and their cytokines in humans. *Int Rev Immunol*. 1998; 16(3-4): 427-455.

Erb K.J., Ruger B., von Brevern M., Ryffel B., Schimpl A., Rivett K.:
Constitutive expression of interleukin (IL)-4 in vivo causes autoimmune-type disorders in mice. *J Exp Med (USA)* 1997; 185: 329-339

FDI World

Fachbeitrag Thema Parodontologie

FDI World 1994; 3: 10-11

Flemming T.F.: Parodontologie- Ein Kompendium. Georg Thieme (1993) S. 5-10

Fowler E.B., Breault L.G., Cuenin M.F.: Periodontal disease and its association with systemic disease. *Mil Med*. 2001; 166(1): 85-89

Fujihashi K., Kono Y., Beagley K.W., Yamamoto M., McGhee J.R., Mestecky J., Kiyono H.: Cytokines and periodontal disease: Immunopathological role of interleukines for B-cell responses in chronic inflamed gingival. *J Periodontol* 1993; 64 (suppl): 400-406

Fujihashi K., Beagley K.W., Kono Y., Aicher W.K., Yamamoto M., DiFabio S., Xu-Amano J., McGhee J.R., Kiyono H.: Gingival mononuclear cells from chronic inflammatory periodontal tissues produce interleukin (IL)-5 and IL-6 but not IL-2 and IL-4. *Am J Pathol*. 1993; 142(4): 1239-1250

Gamonal J., Acevedo A., Bascones A., Jorge O., Silva A.:
Characterization of cellular infiltrate, detection of chemokine receptor CCR5 and interleukin-8 and RANTES chemokines in adult periodontitis.
J Periodontal Res. 2001; 36(3):194-203

Gelfand E.W.: Inflammatory mediators in allergic rhinitis.

J Allergy Clin Immunol. 2004; 114(5 Suppl): 135-138

Gemmell E., Woodford V., Seymour G.J.: Characterization of T lymphocyte clones derived from Porphyromonas gingivalis infected subjects .

J Periodont Res 1996; 31: 47-56

Genco R.J.: Classification and clinical radiographic features of periodontal disease

Contemporary Periodontics. St.Louis: CV Mosby, 1990; 63-81

Genco R.J.: Current view of risk factors for periodontal diseases.

J Periodontol 1996; 67:1041-1049

Glockmann E. und Köhler J.: Ursachen für Zahnextraktionen in den neuen Bundesländern. 1998; Dtsch Zahnärztl Z 53:39-41

Haffajee A.D., Cugini M.A., Tanner A., Pollack R.P., Smith C., Kent R.L. Jr, Socransky S.S.: Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and periodontitis subjects. J Clin Periodontol. 1998; 25(5): 346-53

Harrell J.C., Stein S.H.: Prostaglandin E2 regulates gingival mononuclear cell immunoglobulin production. J Periodontol. 1995; 66(3): 222-227

Herrstrom P., Hogstedt B., Holthuis N., Schutz A., Rastam L.:

Allergic disease, immunoglobulins, exposure to mercury and dental amalgam in Swedish adolescents. Int Arch Occup Environ Health. 1997; 69(5): 339-342

Hart T.C., Kornman K.S.: Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. Periodontology 2000 (1997); 14: 202-215

Holm J.O., Thune P.: Epicutaneous testing (patch testing).

Tidsskr Nor Laegeforen. 1993;113(11):1361-1362

Jotwani R., Pulendran B., Agrawal S., Cutler C.W.: Human dendritic cells respond to *Porphyromonas gingivalis* LPS by promoting a Th2 effector response in vitro. Eur J Immunol. 2003; 33(11): 2980-2986

Kamma J.J., Nakou M., Manti F.A.: Predominant microflora of severe, moderate and minimal periodontal lesions in young adults with rapidly progressive periodontitis. J Periodontal Res. 1995 ; 30(1): 66-72

Kaneko E., Itoh N., Yoshida H., Suzuki M., Ono L.: The cell components and cytokines in the subcorneal microabscess of psoriasis Fukushima. J Med Sci 1991; 37: 103-112

Karpinia K., Magnusson I.: Recent approaches to periodontal therapy. Expert Opin Pharmacother. 2000; 1(6): 1219-26

Kimura S., Yonemura T., Hiraga T., Okada H.: Flow cytometric evaluation of phagocytosis by peripheral blood polymorphonuclear leukocytes in human periodontal diseases. Arch Oral Biol 1992; 37: 495-501

Koning H., Baert M.R., Oranje A.P., Savelkoul H.F., Neijens H.J.: Development of immune functions related to allergic mechanisms in young children. Pediatr Res. 1996; 40(3): 363-375

Kornman K.S., Knobelmann C., Wang H.Y.: Is periodontitis genetic? The answer may be yes! J Mass Dent Soc 2000; 49: 26-30

Kowolik M.J. and Raeburn J.A.: Functional integrity of gingival crevicular neutrophil polymorphonuclear leukocytes as demonstrated by nitroblue tetrazolium reduction. 1980; J Periodont Res 15: 483-491

Krejci C.B., Bissada N.F.: Periodontitis- the risks for its development. Gen Dent 2000; 48: 430-436

Lavine W.S., Maderazo E.G., Stolman J., Ward P.A., Cogen R.B., Greenblatt I., Robertson P.B.: Impaired neutrophil chemotaxis in patients with juvenile and rapidly progressing periodontitis. J Periodontal Res. 1979; 14(1): 10-9

Liebana J., Castillo A.: Physiopathology of primary periodontitis associated with plaque. Microbial and host factors.
A review. Part 2. Aust Dent J. 1994; 39(5): 310-315

Listgarten M.A., Lai C-H, Evian C.E., Comparative antibody titers to Actinobacillus actinomycetemcomitans in juvenile periodontitis, chronic periodontitis and periodontally healthy subjects. J Clin Periodontol 1981; 8: 155-164

Loos B.G., Roos M.T., Schellekens P.T., van der Velden U., Miedema F.: Lymphocyte numbers and function in relation to periodontitis and smoking. J Periodontol. 2004; 75(4): 557-564

Martin S.A., Falkler W.A. Jr., Suzuki J.B., Hawley C.E., Mackler B.F.. Local and systemic immunoglobulins reactive to Bacteroides gingivalis in rapidly progressive and adult periodontitis. J Periodontal Res. 1986; 21(4): 351-364

McFarlane C.G., Reynolds J.J., Meikle M.C.: The release of interleukin1 beta, tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma by cultured peripheral blood mononuclear cells from patients with periodontitis.
J Periodont Res 1990; 25: 207-214

Meyle J.: Eine neue Spülmethode zur Entnahme von Granulozyten bei der Parodontitis und bei Mundschleimhauterkrankungen.
1986; Dt Zahnärztl Z 41:511-514

Mühlemann H.R., Son S.: Gingival sulcus bleeding-A leading symptom in initial gingivitis. Helv Odontol Acta 1971; 15: 107-113

Müller H.P., Flores-de-Jacoby L.: Correlation between clinical findings and morphologic composition of the subgingival plaque in 2 different periodontal diseases. Dtsch Zahnärztl Z. 1985; 40(2): 126-129

Nakajima A., Hirose S., Yagita H., Okumura K.: Roles of IL-4 and IL-12 in the development of lupus in NZB/W F₁ mice. J Immunol 1997; 158: 1466-1472

Newmann H.N. and Addison I.E: Gingival Crevice Neutrophil Function in Periodontitis. 1982; J Periodontol 53: 578-586

Nouri A.M., Panayi G.S.: Cytokines and the chronic inflammation of rheumatic disease. III. Deficient interleukin 2 production in rheumatoid arthritis is not due to suppressor mechanisms. J Rheumatol 1987; 14: 902-906

Okada H., Kida T., Yamagami H.: Characterization of the immunocompetent cells in human advanced periodontitis. J Periodontal Res. 1982; 17(5): 472-473

Page R.C., Altman L.C., Ebersole J.L., Vandesteen G.E., Dahlberg W.H., Williams B.L., Osterberg S.K.: Rapidly progressive periodontitis. A distinct clinical condition. J Periodontol 1983; 54: 197-209

Parronchi P., de Carli M., Manetti R., Simonelli C., Piccinni M-P, Macchia D., Maggi E., Del Prete G., Ricci M., Romagnani S.: Aberrant interleukin (IL)-4 and IL-5 production in vitro by CD4⁺ helper T cells from atopic subjects. Eur J Immunol 1992; 22: 1615-1620

Pfister W. und Eick S.: Mikrobiologische Diagnostik progressiver Formen der Parodontitis marginalis. 2001; tzb 02: 22-28

Ranney R.R.: Immunologic mechanisms of pathogenesis in periodontal diseases: an assessment. J. Periodontal Res. 1991; 26(3 Pt 2): 243-54

Ranney, R. R.: Differential diagnosis in clinical trials of therapy of periodontitis. J. Periodontology 1992; 63: 1052-1057

Renggli H.H.: Polymorphkernige Leukozyten in parodontalen Taschen-Anzahl und Vitalität. 1983; Acta Parodontol 93:148-152

Reich E. and Hiller K.A.: Reasons for tooth loss in the western states of 1993, Germany. Community Dent Oral Epidemiol 21: 379-383

Reinhardt R.A., Bolton R.W., McDonald T.L., DuBois L.M., Kaldahl W.B.: In situ lymphocyte subpopulations from active versus stable periodontal sites.

J Periodontol. 1988; 59(10): 656-670

Richter G., Geier J.: Dental materials--problem substances in allergologic diagnosis? I: Analysis of test results in patients with mouth mucosa/dental material problems.

Hautarzt. 1996; 47(11): 839-843

Richter G.: Dental materials--problem substances in allergologic diagnosis? II: Patch test diagnosis and relevance evaluation of selected dental material groups.

Hautarzt. 1996; 47(11): 844-849

Robinson D.S., Hamid Q., Ying S., Tsicopoulos A., Barkans J., Bentley A.M., Corrigan C., Durham S.R., Kay A.B.: Predominant TH2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma. N Engl J Med. 1992; 326(5): 298-304

Rowe A., Bunker C.B.: IL4 and IL4-rezeptor in allergic contact dermatitis. Contact Dermatitis 1998; 38: 36-39

Salvi G.E., Brown C.E., Fujihashi K., Kiyono H., Smith F.W., Beck J.D., Offenbacher S.: Inflammatory mediators of the terminal dentition in adult and early onset periodontitis. J Periodontal Res. 1997; 33(4): 212-225

Schroeder H.E.: The effects of furcation morphology on periodontal disease.

Dtsch Zahnarztl Z. 1991; 46(5): 324-327

Seymour G.J., Powell R.N., Davies W.I.: Conversion of a stable T-cell lesion to a progressive B-cell lesion in the pathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: an hypothesis. J Clin Periodontol. 1979; 6(5): 267-277

Seymour G.J., Powell R.N., Davies W.I.: The immunopathogenesis of progressive chronic inflammatory periodontal disease. J Oral Pathol. 1979; 8(5): 249-265

Seymour G.J., Greenspan J.S.: The phenotypic characterization of lymphocyte sub-populations in established human periodontal disease.

J Periodontal Res. 1979; 14(1): 39-46

Seymour G.J.: Importance of the host response in the periodontium

J Clin Periodontol 1991; 18: 412-416

Shah H.N., Gharbia S.E., Andrews D.M., Williams J.C., Mehta N., Gulabivala K.: Oral pathogens as contributors to systemic infections.

Trends Microbiol. 1996; 4(10): 372-374

Shah M., Lewis F.M., Gawkrödger D.J.: Contact allergy in patients with oral symptoms: a study of 47 patients. Am J Contact Dermat. 1996; 7(3): 146-151

Sigus B., Klinger G., Holtz H., Süss J.: In vitro phagocytosis by crevicular phagocytes in various forms of Periodontitis. 1992; J Periodontol 63: 496-501

Sigus B., Klinger G., Glockmann E.: Simon H.-U.: Early onset and adult periodontitis associated with abnormal cytokine production by activated T lymphocytes. J Periodontol 1998; 69(10): 1098-1104

Sigus B., Eick S., Pfister W., Klinger G., Glockmann E.: Altered chemotactic behavior of crevicular PMNs in different forms of periodontitis.

J Clin Periodontol. 2001; 28(2): 162-167

Sigus B. W. 2003. Ätiologische bzw. immunpathogenetische Charakterisierung der früh beginnenden Parodontitis und Langzeitergebnisse nach Anwendung eines Zweischnitt-Therapiekonzeptes [Habilitation]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität

Silness J., Löe H.: Periodontal disease in pregnancy. II Correlation between oral hygiene and periodontal condition. Acta Odontol Scand 1964; 22: 121-135

Simon H.U.: Dysregulated apoptosis in chronic eosinophilic diseases-new therapeutic strategies for allergies and bronchial asthma.
Pneumologie 1996; 50: 790-796

Simon H.U., Yousefi S., Dommann Scherrer .CC., Zimmermann D.R., Bauer S., Baradun J., Blaser K.: Expansion of cytokine-producing CD4, CD8 T cell associated with abnormal Fas expression and hypereosinophilia.
J Exp Med 1996; 183: 1071-1082

Simon H.U.: Significance of delayed eosinophilic apoptosis in chronic allergic inflammations. Schweiz Med. Wochenschr 1997; 127(42): 1743-1747

Simon H.U., Plotz S.G., Dummer R., Blaser K.: Abnormal clones of T cells producing interleukin-5 in idiopathic eosinophilia. N Engl J Med. 1999; 341(15): 1112-1120

Skapski H. and Lehner T.: A crevicular washing method for investigating immune components of crevicular fluid in man. 1976/79;J Periodont Res 11: 19-24

Sornasse T., Larenas P.V., Davis K.A., de Vries J.E., Yssel H.: Differentiation and stability of T helper 1 and 2 cells derived from naive human neonatal CD4+ T cells, analyzed at the single-cell level. J Exp Med. 1996; 184(2): 473-483

Stoufi E.D., Taubman M.A., Ebersole J.L., Smith D.J., Stashenko P.P.: Phenotypic analyses of mononuclear cells recovered from healthy and diseased human periodontal tissues. J Clin Immunol. 1987; 7(3): 235-245

Sugita N., Suzuki T., Yoshie H., Yoshida N., Adachi M., Hara K.: Differential expression of CR3, Fc epsilon RII and Fc gamma RIII on polymorphonuclear leukocytes in gingival crevicular fluid. J Periodontal Res. 1993; 28(5): 363-372

Suzuki J.B.: Diagnosis and classification of periodontal disease.
Dent. Clin. North Am. 1988; 32: 195-216

Suzuki T., Sugita N., Yoshie H., Hara K.: Presence of activated eosinophils, high IgE and sCD23 titers in gingival crevicular fluid of patients with adult periodontitis. J Periodontal Res. 1995; 30(3): 159-166

Szczepanik M., Ptak W., Askenase P.W. : Role of interleukin 4 in down regulation of contact sensitivity by gammadelta T – cells from tolerized T – cell receptor alpha - / - mice. *Immunology* 1999; 98: 63-70

Taubman M.A., Stoufi E.D., Ebersole J.L., Smith D.J.: Phenotypic studies of cells from periodontal disease tissues. *J Periodontal Res.* 1984; 19(6): 587-590

Teixeira M.M., Talvani A., Tafuri W.L., Lukacs N.W., Hellewell P.G.: Eosinophil recruitment into sites of delayed-type hypersensitivity reactions in mice. *J Leukoc Biol.* 2001; 69(3): 353-360

Tew J., Engel D., Mangan D.: Polyclonal B-cell activation in periodontitis
J Periodont Res 1989; 24: 225-241

Thurre C., Robert M., Cimasoni G., Baehni P.: Gingival sulcular leucocytes in periodontitis and in experimental gingivitis in humans.
J Periodont Res 1984; 19: 457-468

Tsicopoulos A., Hamid Q., Varney V., Ying S., Moqbel R., Durham S.R., Kay AB.: Preferential messenger RNA expression of Th1-type cells (IFN-gamma+, IL-2+) in classical delayed-type (tuberculin) hypersensitivity reactions in human skin.
J Immunol. 1992; 148(7): 2058-2061

Van Dyke T.E., Tohme Z.N.: Periodontal diagnosis: evaluation of current concepts and future needs. *J Int Acad Periodontol.* 2000; 2(3): 71-78

Velazquez B.L., Segura D.L., Barbosa D.E., Vazquez M.I., Tapia J.G., Altamirano S.C., Feria A.J.: Determination of interleukins and IgG4 in patients with allergic rhinitis with and without immunotherapy. *Rev Alerg Mex.* 2004; 51(4): 139-144

Vowels B.R., Rook A.H., Cassin M., Zweiman B.: Expression of interleukin 4 and interleukin 5 mRNA in developing cutaneous late - phase - reactions.
J Allergy Clin Immunol 1995; 96: 92-96

Wang C.H., Hsieh W.Y., Shih L.Y., Lin H.C., Liu C.Y., Chung K.F., Kuo H.P.: Increased progenitor cell proliferation in the peripheral blood of patients with bronchial asthma: the role of nitric oxide. *J Allergy Clin Immunol.* 1999; 104(4 Pt 1): 803-810

Weiherr G. und Storch H.: (1985) Eine neue Methode zur Gewinnung von Sulkusfluid für humorale und zelluläre Untersuchungen. *Stomatol DDR* 35: 136-139

Wilton J.M., Renggli H.H., Lehner T.: The isolation and identification of mononuclear cells from the gingival crevice in man. 1976; *J Periodont Res* 11: 262-268

Yamazaki K., Nakajima T., Aoyagi T., Hara K.: Immunohistological analysis of memory T lymphocytes and activated B lymphocytes in tissues with periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1993; 28(5): 324-334

Yamazaki K., Nakajima T., Hara K.: Immunohistological analysis of T cell functional subsets in chronic inflammatory periodontal disease. *Clin Exp Immunol* 1995; 99: 384-391

Yun L.W., Decarlo A.A., Collyer C., Hunter N.: Enhancement of Th2 pathways and direct activation of B cells by the gingipains of *Porphyromonas gingivalis*. *Clin Exp Immunol.* 2003; 134(2): 295-302

Zafiropoulos G.G., Flores-de-Jacoby J.L., Todt G., Kolb G., Havemann K., Tatakis D.N.: Gingival crevicular fluid elastase-inhibitor complex: correlation with clinical indices and subgingival flora. *J Periodontal Res.* 1991; 26(1): 24-32

Zafiropoulos G.G., Zimmermann A., Flores-de-Jacoby L., Tsalikis L.: The etiopathogenesis of periodontal diseases: the role of microorganisms. A review. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* 1991; 101(2): 151-161

Zambon J.J.: Periodontal diseases: Microbial Factors. *Ann Periodont* 1996; 1: 879-925

Teilnahme an Posterpräsentation:

1. Pathirana H.S., Sigusch B.W., Klinger G., Glockmann E.: Hinweise für eine allergische Komponente in der Parodontitispathogenese. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Parodontologie 2001. Baden-Baden FSU Jena ZZMK Poliklinik f. Konservierende Zahnheilkunde
2. Sigusch B.W., Nietzsche T., Pathirana H.S., Pfitzner A., Völpel A., Glockmann E.: Increased CF- Eosinophils in Periodontitis Patients with Allergy. IADR/AADR/CADR 82nd General Session (March 10-13, 2004) Honolulu. 2004, Hawaii Convention Center Exhibit Hall 1-2, Friedrich Schiller University, Jena, Germany.

Lebenslauf

Name:	Himapriya Sanath Pathirana
Adresse:	Olav Kyrres Gate 11 4005 Stavanger, Norwegen
Geburtsdatum:	08. 11. 1969
Geburtsort:	Colombo/ Sri Lanka
Eltern:	Piyasena Pathirana, Esme Pathirana

Schulbildung in Sri Lanka

Grundschule:	1976 - 1983 in Colombo (Royal College)
Mittelschule:	1984 - 1985 in Colombo (Royal College)
Abitur:	1986 - 1988 in Colombo (Royal College)
Computer Kurs: City & Guild 418 of London Institute, PEI	1988 - 1989 in Colombo (Royal Institute)

Ausbildung in Deutschland

Deutschkurs: (VHS Zertifikat)	1989 - 1990 in Oldenburg
Studienkolleg: (deutsches Abitur)	1991 - 1992 in Hannover
Pflegepraktikum:	2 Monate im Evangelischen Krankenhaus in Oldenburg

Studium

Biologie:	1992 bis 1993 an der Universität Oldenburg
Medizin:	1993 bis 1996 an der Friedrich – Schiller Universität Jena
Zahnmedizin:	1996 bis 2001 an der Friedrich-Schiller-Universität Jena

Berufliche Tätigkeiten

Krankenpfleger:	1993 bis 1997 am Universitätsklinikum Jena (Unfallchirurgie u. Neurochirurgie)
Wissenschaftlicher Mitarbeiter:	1999 bis 2002 in der Poliklinik für Konservierende Zahnheilkunde am Klinikum der Friedrich-Schiller-Universität Jena (gefördert durch ein Thüringer Landesgraduierstipendium)
Tutor:	1999 bis 2000 in der Poliklinik für Konservierende Zahnheilkunde am Klinikum der Friedrich-Schiller-Universität Jena
Zahnärztliche Tätigkeit:	seit 2003 Rogaland Fylkeskommune Tannklinikken Bryne Norwegen

Himapriya Sanath Pathirana

Danksagung

Herrn Priv. Doz. Dr. Sigusch gebührt besonderer Dank für die Überlassung des Themas, die fachliche Betreuung, die anregenden Diskussionen, die vielfältigen Hinweise und die Unterstützung während der Bearbeitung des Themas.

Mein Dank gilt auch **Herrn Dr. Vogelsang** und seinen Mitarbeitern für die wertvolle Unterstützung bei den FACS Untersuchungen im Institut für Immunologie an der FSU Jena.

Bedanken möchte ich mich auch bei der wissenschaftlichen Mitarbeiterin **Frau Andrea Völpel**, die bei der Durchführung der Untersuchungen, der statistischen Auswertung der Ergebnisse sowie für Gespräche aller Art, eine große Hilfe war.

Nicht zuletzt danke ich **Frau Barbara Hoffmeister, Herrn Thomas Nietzsche** und allen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Wissenschaftlichen Labors der Poliklinik für konservierende Zahnheilkunde FSU Jena für die gute Zusammenarbeit und die angenehme Atmosphäre.

Während der Promotionszeit wurde ich finanziell unterstützt durch das Graduiertenkolleg des Landes Thüringen im Rahmen des Thüringer Graduiertenstipendiums. Hierfür bedanke ich mich herzlich.

Ein letzter Dank geht an meine lieben Freunde und Kollegen.

**Meiner Freundin Birgit
und meinen beiden Familien in Deutschland und Sri Lanka
in Dankbarkeit gewidmet.**

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass

- mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich- Schiller- Universität Jena bekannt ist,
- ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,
- mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Herr Priv. Doz. Dr. Sigusch, Dr. Vogelsang, Frau Völpel, Fr. Hoffmeister, Hr. Nietzsche
- die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde,
- Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen
- und ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, am 28. Januar 2005

Sanath Pathirana, Verfasser